

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

## Facultad de Ciencias

Escuela Académico Profesional de Biología-Microbiología

“Efecto de la ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa  
“azúcar rubia” en los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos  
y calcio en *Rattus norvegicus* var. Wistar en condiciones  
in vitro UNSA - Arequipa 2014”

## TESIS

Presentada por:

Bach. Elizabeth Gladys Cahuaya Chuquicallata

Para optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

TACNA - PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

FACULTAD DE CIENCIAS

Escuela Académico Profesional de Biología - Microbiología

Tesis N° 225

TÍTULO PROFESIONAL DE:

BIÓLOGO MICROBIÓLOGO

El Secretario Académico de la Facultad de Ciencias, certifica que por resolución de Facultad N° 7865-2014-FACI-UNJBG, el Consejo de Facultad dirigido como jurado para la sustentación de Tesis: **“Efecto de la ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa “azúcar rubia” en los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y calcio en *Rattus norvegicus* var. Wistar en condiciones in vitro UNSA - Arequipa 2014”**

El mismo que estuvo conformado por:

**Presidente:** Dr. Segundo Manuel Alvarado Contreras.

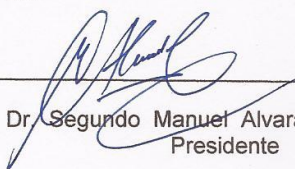
**Secretario:** Mgr. Roberto Castellanos Cabrera.

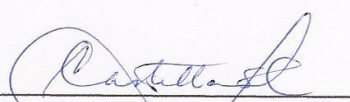
**Vocal:** Msc. Vicente Freddy Chambilla Quispe.

Para examinar y calificar la sustentación de tesis en acto público, en el auditorio de la Facultad de Ciencias de la UNJBG, el día 3 de setiembre del 2014 a las 10:30 am. Presentada por la **Bachiller Elizabeth Gladys Cahuaya Chuquicallata**, de la Escuela Académico Profesional de Biología - Microbiología.


El jurado calificador en forma secreta e individual se pronuncio acerca de su calificativo sobre la tesis expuesta y procedió a emitir el siguiente veredicto. **APROBADO** por **UNANIMIDAD** y con el calificativo de Quince (15) **BUENO**.

Para ratificar lo detallado firman.

  
Dr. Segundo Manuel Alvarado Contreras  
Presidente

  
Mgr. Roberto Castellanos Cabrera.

Secretario

  
Msc. Vicente Freddy Chambilla Quispe

Vocal

## **DEDICATORIA**

A Dios, por su intervención y provisión sobrenatural durante todo el proyecto.

A mis padres Julián y Gregoria, por su amor, apoyo incondicional, comprensión y guía.

A mis hermanas Magaly y Marisol, por darme ánimo.

A mis amigos.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por estar siempre conmigo, ser mi guía en cada paso de mi vida ya que sin él, nada hubiera funcionado gracias Dios por tu intervención sobrenatural, provisión y respaldo en todo mi proyecto.

A mis padres a los cuales amo mucho por apoyarme en todo el transcurso de mi proyecto.

A mi hermana Magaly por darme fortaleza y creer en mí.

A mi hermana Marisol por apoyarme.

A mi Asesor Víctor Carbajal, Co-asesor Ángel Pérez Valverde y Blgo. Alejandro Parí por el apoyo brindado.

A Mariluz, Catherine y Cesar.

A todos muchas gracias.

## TABLA DE CONTENIDO

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Resumen	
<b>ÍNDICE</b>	<b>Pág.</b>
<b>I. Introducción</b> .....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Antecedentes.....	4
1.3. Justificación.....	10
1.4. Objetivos .....	14
1.4.1. Objetivo general.....	14
1.4.2. Objetivos específicos .....	14
1.5. Hipótesis .....	15
<b>II. Marco Teórico</b>	
2.1. Los edulcorantes .....	16
2.1.1. Reseña histórica .....	16
2.1.2. Definición .....	17
2.1.3. Clasificación de edulcorantes.....	19
2.1.3.1. Azúcares naturales o edulcorantes nutritivos.....	19
2.1.3.2. El azúcar .....	20
2.1.3.3. Clases de azúcar.....	22
2.1.3.4. Edulcorantes artificiales no nutritivos.....	23
2.1.3.4.1. Clasificación de edulcorantes no nutritivos...	25
2.1.4. Importancia del uso de edulcorantes.....	43
2.1.5. Uso de edulcorantes artificiales por la industria.....	45
2.1.6. Aplicaciones de edulcorantes en la industria alimentaria ..	46
2.1.7. Cantidades recomendadas de edulcorantes .....	47
2.1.7.1. Ingesta Diaria Admisible (IDA).....	48

2.2. Clasificación científica .....	51
2.2.1. Rata Wistar como modelo animal.....	52
2.2.2. Rattus novegicus .....	54
2.2.3. Características generales y biológicas de la rata Wistar ...	54
2.2.4. Características morfológicas .....	56
2.2.5. Reproducción.....	59
2.2.6. Distribución mundial.....	59
2.2.7. Habilidades .....	61
2.2.8. Determinaciones bioquímicas .....	62
<b>III. Marco metodológico .....</b>	<b>70</b>
3.1. Área de estudio .....	70
3.2. Muestra .....	70
3.3. Tipo de estudio .....	70
3.4. Variables .....	70
3.5. Diseño experimental .....	72
3.6. Protocolo .....	73
3.7. Procedimiento y análisis de laboratorio.....	74
3.7.1. Metodología de crianza .....	74
3.7.2. Análisis de laboratorio .....	75
3.7.3. Obtención y procedimiento de la muestra .....	75
3.7.4. Evaluación del peso corporal .....	77
3.7.5. Determinaciones de parámetros bioquímicos .....	78
3.7.6. Diseño estadístico .....	92
<b>IV. Resultados .....</b>	<b>93</b>
<b>V. Discusión .....</b>	<b>110</b>
<b>VI. Conclusiones .....</b>	<b>120</b>
<b>VII. Recomendaciones .....</b>	<b>122</b>

<b>VIII. Bibliografía.....</b>	<b>123</b>
<b>IX. Anexo .....</b>	<b>137</b>

## INDICE DE CUADRO

	<b>Pág.</b>
Cuadro N° 1. Operacionalizacion de variables .....	71
Cuadro N° 2. Dosis de Tratamientos.....	72

## INDICE DE GRÁFICOS

	<b>Pág.</b>
Gráfico N° 1. Peso promedio según tiempos de evaluación.....	95
Gráfico N° 2. Concentración de glucosa según tiempos de evaluación .....	98
Gráfico N° 3. Concentración de colesterol según tiempos de evaluación .....	101
Gráfico N° 4. Concentración de triglicéridos según tiempos de evaluación .....	104
Gráfico N° 5. Concentración de calcio según tiempos de evaluación .....	107
Gráfico N° 6. Ganancia de peso según tratamientos a los 45 días de evaluación .....	109

## INDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura N° 1. Estructura molecular de la sacarosa .....	21
Figura N° 2. Estructura molecular de sacarina .....	27
Figura N° 3. Estructura molecular de ciclamato de sodio .....	30
Figura N° 4. Estructura molecular de aspartame .....	35
Figura N° 5. Estructura molecular de acesulfame de potasio .....	40

## INDICE DE TABLA

	<b>Pág.</b>
Tabla N° 1. Contenido de Ác aspártico, fenilalanina y metanol en alimentos comunes .....	39
Tabla N° 2. Edulcorantes artificiales .....	44
Tabla N° 3. Ingesta Diaria Admisible (IDA) para edulcorantes no calóricos (ENC).....	50
Tabla N° 4. Evaluación y comparación del peso corporal por efecto de tres tipos de edulcorantes en <i>Rattus norvegicus</i> var. Wistar.....	93
Tabla N° 5. Evaluación y comparación de la concentración de glucosa por efecto de tres tipos de edulcorantes en <i>Rattus norvegicus</i> var. Wistar .....	96
Tabla N° 6. Evaluación y comparación de la concentración de colesterol por efecto de tres tipos de edulcorantes en <i>Rattus norvegicus</i> var. Wistar .....	99
Tabla N° 7. Evaluación y comparación de la concentración de triglicéridos por efecto de tres tipos de edulcorantes en <i>Rattus norvegicus</i> var. Wistar .....	102
Tabla N° 8. Evaluación y comparación de la concentración de calcio por efecto de tres tipos de edulcorantes en <i>Rattus norvegicus</i> var. Wistar .....	105

Tabla N° 9. Evaluación y comparación de la ganancia de peso por efecto de tres tipos de edulcorantes en <i>Rattus norvegicus</i> var. Wistar .....	108
--	-----

## INDICE DE ANEXO

	<b>Pág.</b>
Anexo N° 1. Determinaciones bioquímicas primera evaluación .....	137
Anexo N° 2. Determinaciones bioquímicas segunda evaluación .....	138
Anexo N° 3. Determinaciones bioquímicas tercera evaluación .....	139
Anexo N° 4. Determinaciones bioquímicas cuarta evaluación.....	140
Anexo N° 5. Peso corporal.....	141
Anexo N° 6. Ganancia de peso corporal (%).....	142
Anexo N° 7. Jaula de tratamientos de ratas Wistar .....	142
Anexo N° 8. Toma de muestra de sangre .....	143
Anexo N° 9. Capilares heparinizados con muestra de sangre.....	143
Anexo N° 10. Capilares heparinizados en la estufa .....	143
Anexo N° 11. Colocación de plasma en los tubos con reactivo.....	144
Anexo N° 12. Tubos con muestra y reactivos enzimático.....	144
Anexo N° 13. Espectrofotómetro.....	144
Anexo N° 14. Reactivo enzimáticos .....	145
Anexo N° 15. Reactivos enzimáticos colorimétricos.....	145
Anexo N° 16. Materiales de laboratorio.....	145
Anexo N° 17. Materiales de vidrio del laboratorio.....	146
Anexo N° 18. Balanza CAMRY .....	146
Anexo N° 19. Centrifuga GELEC .....	146

Anexo N° 20. Micropipeta y Tips.....	147
Anexo N° 21. Trampa de madera .....	147
Anexo N° 22. Materiales de escritorio .....	147
Anexo N° 23. Material de limpieza .....	148
Anexo N° 24. Alimento NICOVITA .....	148
Anexo N° 25. Materiales para la alimentación.....	148
Anexo N° 26. Materiales para la alimentación.....	149
Anexo N° 27. Materiales para la bebida .....	149
Anexo N° 28. Bioterio de la UNSA .....	149
Anexo N° 29. Laboratorio de Análisis Biológicos.....	150
Anexo N° 30. Tesista .....	150
Anexo N° 31. Animales de experimentación .....	150

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa “azúcar rubia” sobre los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y calcio en *Rattus norvegicus* var. Wistar. El trabajo de investigación se realizó en el Bioterio y Laboratorio de Análisis Biológicos del departamento de Biología de la UNSA, Arequipa durante los meses de enero, febrero y marzo del 2014.

Se utilizaron 20 especímenes de *Rattus norvegicus* var. Wistar, de 5 a 6 meses de edad con un peso promedio de 250 a 280g, las ratas Wistar fueron asignadas aleatoriamente y divididas en 4 grupos (5 ratas Wistar por grupo) el grupo control abastecidas con agua y los 3 grupos tratadas con los 3 tipos de edulcorantes sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa “azúcar rubia” durante 45 días.

Los tratamientos fueron administrados por vía orogastrica, con una dosis diaria individual de 0,75 g/kg/día de sacarosa “azúcar rubia”, 0,2 g/kg/día de sacarina y 0,07 g/kg/día ciclamato de sodio, a excepción del grupo control. Durante la investigación se tomaron muestras de sangre (en ayuno) al inicio de la investigación (datos basales), luego con la aplicación de tratamientos a los 15, 30 y 45

días y se determinó la concentración plasmática de glucosa, colesterol, triglicéridos y calcio utilizando métodos enzimáticos colorimétricos así mismo se realizaron 4 evaluaciones del peso corporal.

Los resultados obtenidos muestran variaciones estadísticamente significativas en el metabolismo, tras la ingesta de los diferentes edulcorantes, evidenciando un incremento estadísticamente significativo en los tratamientos T1, T2 y T3 a los 15 días y altamente significativos a los 30 y 45 días, observando un mayor incremento en el tratamiento T2 en comparación con el tratamiento control, el cual no sufrió ninguna variación considerable, para la investigación se empleó la prueba estadística ANOVA, para evaluar las posibles diferencias significativas entre los grupos de tratamientos y la prueba de especificidad de Tukey.

## **ABSTRACT**

The effect of the intake of saccharin, sodium cyclamate and sucrose "brown sugar" on the levels of glucose, cholesterol, triglycerides and calcium were evaluated *Rattus norvegicus* var. Wistar. The research was conducted in the animal and Biological Analysis Laboratory of the Department of Biology UNSA, Arequipa during the months of January, february and march 2014.

20 specimens were used *Rattus norvegicus* var. Wistar, 5 to 6 months old with an average weight of 250 to 280 g, Wistar rats were randomized and divided into 4 groups (5 Wistar rats per group) control group supplied with water and three groups treated with the 3 types of sweeteners saccharin, sodium cyclamate and sucrose "brown sugar" for 45 days.

The treatments were administered by orogastric route with a single daily dose of 0.75 g / kg / day of sucrose "brown sugar", 0.2 g / kg / day of saccharin and 0.07 g / kg / day cyclamate sodium, except the control group. During the investigation, blood samples were taken (fasted) at the start of the investigation (baseline data), then the

application of treatments at 15, 30 and 45 days and plasma glucose, cholesterol, triglycerides and determined calcium using colorimetric enzymatic assays likewise four body weight evaluations were conducted.

The results show statistically significant changes in metabolism after ingestion of different sweeteners, showing a statistically significant increase in the T1, T2 and T3 at 15 days and highly significant at 30 and 45 days increased, having a greater increase T2 in the treatment compared with the control treatment, which did not suffer any significant change for research ANOVA statistical test was used to evaluate possible significant differences between the treatment groups and the specificity test of Tukey.

## I. INTRODUCCION

Desde tiempos ancestrales la humanidad ha tenido una marcada preferencia hacia los alimentos dulces. A fines del siglo XVII una nueva idea se apoderó de la comunidad médica. Se decía que el azúcar era responsable de provocar muchas enfermedades y ante esta situación surgió la necesidad de buscar un aditivo que pudiera sustituir al azúcar, proporcionando las mismas cualidades y sensaciones que producía el azúcar. Es así como nacen los edulcorantes, aditivos alimentarios que son capaces de simular la presencia del azúcar al agregar a los alimentos.

Los edulcorantes se emplean en los alimentos por varias razones, para dar sabor dulce, para dar cuerpo al alimento, para proporcionar un importante aporte calórico y para actuar como conservante dentro de los edulcorantes encontramos los de alto valor calórico, como el azúcar o la miel y los de bajo valor calórico, que se emplean como sustitutos del azúcar. En ambos tipos encontramos edulcorantes naturales y artificiales.

El endulzante más antiguo ha sido la sacarosa o azúcar común, la cual se extrae principalmente de la caña de azúcar planta cultivada desde hace más de 3000 años y refinada a partir del siglo XVI. Pero la sacarosa resulta prohibida para los diabéticos.

Por ello la industria farmacéutica y alimentaria trabaja permanentemente para lograr sustituir dicho producto por un edulcorante bajo en calorías. Sin embargo, el uso de edulcorantes artificiales ha sido objeto de múltiples polémicas en lo respecto a su seguridad a largo plazo o uso excesivo.

Para que un edulcorante natural o artificial sea utilizado por la industria alimentaria, tiene que cumplir con ciertos requisitos, debe tener la capacidad de degradarse rápidamente; debe ser lo más parecido al azúcar común en cuanto al sabor; su aporte calórico sea sensiblemente más bajo al del azúcar común, debe ser lo suficientemente estable para mantener sus cualidades al ser combinado con otros alimentos, así como al ser procesado debe mantener su termoestabilidad.

## 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La hiperglucemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y la diabetes son algunas de las enfermedades de este siglo provocadas por el consumo de azúcares refinados y de alimentos ricos en grasa, ante esta situación surgió la necesidad de buscar un aditivo que pudiera sustituir al azúcar, proporcionando las mismas cualidades y sensaciones. Los edulcorantes artificiales han ganado espacio, ya que proporcionan el sabor dulce del azúcar, pero sin el aporte calórico, los edulcorantes se emplean en repostería (tortas, pasteles, bocaditos), cremas, helados y en bebidas gasificantes.

El trabajo de investigación se enfocara en evaluar el efecto de 3 tipos de edulcorantes muy empleados en repostería, helados y bebidas, se investigara si estos alteran los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol y calcio en *Rattus norvegicus* var. Wistar.

¿Cómo afecta la ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa “azúcar rubia” los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y calcio en *Rattus norvegicus* var. Wistar en condiciones in vitro?

## 1.2. ANTECEDENTES

El consumo de edulcorantes artificiales se ha estudiado con énfasis por su relación con el cáncer vesical, desde 1970 está prohibido en los Estados Unidos el uso de ciclamato como aditivo de los alimentos, con base en los resultados de un estudio que demostró un incremento significativo en la frecuencia de tumores vesicales en ratas que recibieron una mezcla de ciclamato y sacarina en dosis de hasta 2500 mg/kg/día (Benjumea, Correa, 2010).

La tendencia hacia el consumo de productos con bajas calorías ha incrementado el interés por los endulzantes alternativos al azúcar, que en la actualidad son muy solicitados en un amplio mercado tanto para la elaboración de productos procesados como para el consumo directo (Rodríguez et al., 2009).

La controversia en el uso de la sacarina está centrada en que los estudios realizados en ratas produjeron tumores de vejiga cuando estas fueron alimentadas con dosis diarias de 5 a 7,5 %. Estos estudios indican que altos niveles diarios de sacarina incrementan la incidencia de tumores de vejiga en ratas. Sin embargo la

extrapolación de los estudios realizados en animales al hombre es difícil dado que las dosis ingeridas por los animales resultaban equivalentes a la ingesta diaria de 800 y 1000 latas de bebida dietética conteniendo sacarina. Es así como la mayoría de los científicos en la actualidad concuerdan que resulta poco probable que la sacarina presente riesgo de producir cáncer (Giannuzzi, Molina, 1995).

Se realizó un estudio en 2010 en el cual grupos de 10 ratas fueron alimentadas con agua endulzada con 8 % JFAM 12 horas al día, 8 % JMAF 24 horas al día y 10 % con sucrosa 12 horas al día (azúcar de casa) todas con ad libitum (alimento para ratas) o sólo alimento ad libitum durante 8 semanas. Luego grupos de 8 ratas macho fueron alimentadas para comparar las dietas con edulcorante añadido en forma de JMAF con las que no lo tenían durante 6 meses. Los grupos de 8 ratas hembra fueron alimentadas para comparar dietas sin edulcorante o con diferentes tipos a los que no recibieron ninguno durante 7 meses (Bocarsly et al., 2010).

Debido al cambio de hábitos alimentarios, en las últimas décadas ha aumentado el consumo de los alimentos endulzados con HFS, sobre todo de las bebidas carbonatadas, calculándose que en Estados Unidos el consumo calórico de este edulcorante creció de 0.29 kg/persona /año en 1970, a 33.4 kg/persona /año en 2000, (Bray et al., 2004).

La mayor parte de la investigación experimental sobre el consumo de azúcares en ratas se ha producido a partir de la atracción extrema de estos animales hacia las propiedades energéticas y de sabor (que incluye el sabor, olor y textura) de la glucosa. Sin embargo, también se ha demostrado que los endulzantes artificiales tienen un efecto sobre la conducta alimentaria. No obstante, el potencial efecto de los edulcorantes naturales o artificiales sobre la emisión de respuestas alimentarias no ha sido lo suficientemente estudiado aun (Kander et al., 1988).

En las últimas décadas, el consumo de bebidas azucaradas se ha incrementado en todo el mundo, por ejemplo, el consumo en México se duplicó entre 1999 y 2006 a través de todos los grupos (Barquera, 2008).

Entre 1977 y 2002, el consumo per cápita de bebidas con aporte energético se duplicó en los Estados Unidos en todas las edades, los datos más recientes 2005- 2006 muestran que los niños y adultos en los Estados Unidos consumen alrededor de 172 y 175 Kcal al día, respectivamente provenientes de bebidas azucaradas (Brownell et al., 2009).

Se evaluó el comportamiento de las concentraciones sanguíneas de glucosa, insulina y leptina en mujeres que consumieron bebidas con fructosa (30 % del consumo calórico total). Cuando las mujeres consumieron las bebidas con fructosa, las concentraciones de glucosa, insulina y leptina disminuyeron en un 47 %, 65 % y 24 % respectivamente (Teff et al., 2004).

Se administró un suplemento de fructosa (62 % del contenido calórico total) durante cinco semanas a ratas sanas y registraron mayor ganancia de peso en ese grupo experimental, que el obtenido por ratas suplementadas con una mezcla calórica de almidón sacarosa (Rousseau et al., 2003).

Señalan que el consumo por 3 semanas de 1150 g de bebida carbonatada endulzada con HFS (18 % del contenido calórico total), incremento significativamente el consumo de alimentos y el peso corporal de hombres y mujeres, comparado con el consumo de la misma cantidad de bebida endulzada con aspartame (Tordoff et al., 1990).

Un estudio epidemiológico sobre la asociación entre el consumo de bebidas no alcohólicas endulzadas con edulcorantes artificiales y el riesgo de parto prematuro no dan razones para reconsiderar una revisión de evaluaciones precedentes del aspartamo y otros edulcorantes actualmente autorizados en la UE (Halldorson et al., 2010).

La clasificación de los edulcorantes presenta varios enfoques uno de ellos los clasifica como edulcorantes calóricos y de bajas calorías, siendo los edulcorantes calóricos aquellos que principalmente hacen un aporte energético al metabolismo de los hidratos de carbono, encontrando aquí a la sacarosa y fructosa, dentro de los de bajas calorías a la sacarina y al ciclamato. Otra forma de clasificarlos tiene en cuenta su origen, distinguiéndose entre edulcorantes sintéticos y edulcorantes naturales, pudiendo

encontrarse entre los primeros a la sacarina, el aspartamo, el ciclamato y el acesulfame de potasio y dentro de los edulcorantes naturales las taumatococinas, la monelina, la miraculina y los esteviósidos (Giannuzzi et al., 1995).

### **1.3. JUSTIFICACIÓN.**

Las tendencias actuales en la alimentación y la vida rápida, han llevado al hombre a un mayor consumo de alimentos concentrados en azúcares refinados y grasas. Siendo la obesidad, considerada como la epidemia del siglo XXI, y la diabetes una enfermedad cada vez con mayor incidencia, tanto la ciencia como las industrias, se hallan en la constante búsqueda por mejorar la calidad de los alimentos, reemplazando parcial o totalmente a los azúcares por edulcorantes no nutritivos y disminuyendo el aporte de grasas.

Según un estudio de la Organización Internacional del Azúcar en el 2008, la utilización de edulcorantes durante los últimos años presento un alto nivel de crecimiento con relación al incremento de azucares regulares.

Los edulcorantes son sustancias artificiales que se clasifican en nutritivas y no nutritivas o no calóricos. Los edulcorantes naturales como la sacarosa (azúcar común), se encuentran en una gran cantidad de alimentos como tortas, caramelos, helados, gaseosas y bocaditos. Muchos de los edulcorantes no

nutritivos, se emplean a diario, tal vez sin que uno se dé cuenta, vemos su empleo en repostería, específicamente en las pastelerías donde se elabora tortas, pasteles, bocaditos, cremas, helados y en bebidas edulcorantes o gasificantes, específicamente en las bebidas dietéticas como un componente principal, también se encuentra en los chocolates, galletas y muchas golosinas que consumimos a diario, debido a su poder endulzante que es muchísimo superior al del azúcar común y la cantidad a utilizar es mínima. Una amplia variedad de productos contiene edulcorantes bajos en calorías, incluyendo los refrescos, los productos lácteos, como el yogur y los helados, los postres, los chicles, los condimentos, como los aliños para ensalada, mostazas, salsa y muchos productos como las multivitaminas masticables, colutorios y jarabes para la tos. (Yeager, 2001).

Las principales bebidas consumidas por las personas debido al trabajo y la vida rápida, son los refrescos, aguas frescas, jugos, leche entera, café y té con azúcar agregada, bebidas alcohólicas y bebidas energizantes (Yeager, 2001).

El sobrepeso y la obesidad constituyen un problema de salud pública en varios países, alcanzando tasas de epidemia a nivel mundial, debido al desequilibrio entre la ingesta calórica y el consumo de energía, razón por la cual se debe controlar el consumo de azúcar de millones de personas.

El Perú, es uno de los países conocidos como consumidores mundiales de bebidas endulzadas, según la Asociación Nacional de Productores Mundiales de Bebidas Endulzadas, según la Asociación Nacional de Productores de Refrescos y Aguas carbonatadas. En el 2007 en el país de México se consumieron 160.1 litros de refresco por persona por año. Esto se traduce en que las bebidas endulzadas representan el 27.8 % y el 20.7 % del consumo diario de calorías en niños pre-escolares y escolares, lo cual muy posiblemente favorece el desarrollo de obesidad.

En el presente trabajo, se buscó observar cómo afecta la ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa “azúcar rubia” los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y calcio en *Rattus norvegicus* var. Wistar en condiciones in vitro, el cual se realizó

en el Bioterio y Laboratorio de Análisis Biológicos de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la UNSA Arequipa.

## **1.4.OBJETIVOS**

### **1.4.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto de la ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa “azúcar rubia” en los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y calcio en *Rattus norvegicus* var. Wistar en condiciones in vitro en la UNSA - Arequipa 2014.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Cuantificar la concentración de glucosa en los 4 grupos de tratamientos en *Rattus norvegicus* var. Wistar.
- Evaluar la concentración de triglicéridos en los 4 grupos de tratamientos en *Rattus norvegicus* var. Wistar.
- Cuantificar la concentración de colesterol en los 4 grupos de tratamientos en *Rattus norvegicus* var. Wistar.
- Evaluar la concentración de calcio en los 4 grupos de tratamientos en *Rattus norvegicus* var. Wistar.
- Comparar los resultados obtenidos de los tratamientos con el control.

### **1.5.HIPÓTESIS**

La ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa "azúcar rubia" provoca un aumento en la concentración de glucosa, colesterol, triglicéridos y una disminución de calcio en *Rattus norvergicus* var. Wistar.

## **II. MARCO TEORICO**

### **2.1. Los edulcorantes**

#### **2.1.1. Reseña histórica**

Los edulcorantes se emplean en los alimentos por varias razones, para dar sabor dulce, para dar cuerpo al alimento, para proporcionar un importante aporte calórico y para actuar como conservante.

Antiguamente, los exudados de ciertos arboles como el mana, fueron utilizados en el mediterráneo como edulcorantes en las preparaciones de repostería porque eran ricos en manitol; la utilización del mana fue sustituida por el azúcar, edulcorante natural por excelencia, con el cual satisfacía el ser humano su ansia por el sabor dulce; posteriormente, el dulzor proveniente del azúcar de caña y de la remolacha fue suplido, entre otros por la miel de abeja, por el sorgo y por el maíz, que contiene carbohidratos naturales como el almidón, glucosa y la fructosa; esta última a pesar de ser la más dulce ha sido desplazada por la sacarosa debido a sus alto costo comercial (Benjumea et al., 2010).

Hasta el final del siglo XIX el hombre solo disponía de edulcorantes naturales como azúcar, miel, glucosa, derivados del almidón y lactosa; actualmente se han abierto nuevas vías en la producción de moléculas orgánicas y biológicas en el sector de la sucroquímica y se cuenta con una variedad de edulcorantes artificiales o de sustitución (Benjumea et al., 2010).

### **2.1.2. Definición.**

Se llama edulcorante a cualquier sustancia, natural o artificial, que edulcora, que sirve para dotar de sabor dulce a un alimento o producto que de otra forma tiene sabor amargo o desagradable, dentro de los edulcorantes encontramos los de alto valor calórico, como el azúcar o la miel, y los de bajo valor calórico, que se emplean como sustitutos del azúcar. En ambos tipos encontramos edulcorantes naturales y artificiales pero la mayoría de los edulcorantes bajos en calorías son de origen artificial. (Navarro, 2012).

Una clase importante de sustitutos del azúcar son conocidos como edulcorantes de alta intensidad. Éstos tienen una dulzura varias veces superior a la del azúcar común de mesa, como resultado es requerido menos edulcorante y la contribución y energía es a menudo insignificante. La sensación de dulzor causada por estos componentes es a veces notablemente diferente de la sacarosa, de manera que frecuentemente éstos son usados con mezclas complejas que alcanzan una sensación de dulzor más natural (Benjumea et al., 2010).

La mayoría de los sustitutos del azúcar aprobados para el uso en alimentos son compuestos sintetizados artificialmente sin embargo, algunos sustitutos naturales del azúcar son conocidos, incluyendo el sorbitol y el xilitol, los cuales son encontrados en las bayas, frutas, vegetales y hongos. No es viable comercialmente la extracción de estos productos de frutas y vegetales, por lo que son producidos por hidrogenación catalítica del azúcar reductor. Algunos edulcorantes no azúcares son polioles, también conocidos como "alcoholes de azúcar". Éstos son en general, menos dulces que la sacarosa, pero tienen

propiedades de volumen similares y pueden ser usados en un amplio rango productos alimentarios (Benjumea et al., 2010).

### **2.1.3. Clasificación de edulcorantes.**

#### **2.1.3.1. Azúcares naturales o endulzantes nutritivos**

Se les llama así porque aportan calorías y elevan la glucosa en sangre, son los que aportan 4 Kcal por gramo. Incluyen azúcares como sacarosa, glucosa, fructosa, dextrosa, lactosa, maltosa, miel, jarabe de maíz, molasas, jarabe de glucosa, levulosa, concentrados de jugos de frutas y polioles (sorbitol, manitol y xilitol).

Todos ellos se han llamado también azúcares simples o concentrados y constituyen un conjunto heterogéneo de compuesto químicos; incluyen los monosacáridos (glucosa y fructuosa) y los disacáridos (sacarosa: azúcar de caña o remolacha, la lactosa: azúcar de la leche y la maltosa: azúcar de malta) que son los más abundantes en la naturaleza (Navarro, 2012).

De los miembros de este grupo es particularmente importante la fructosa para personas con diabetes, ya que eleva la glucosa más lentamente que el resto de azúcares. Se pueden encontrar en el mercado gran variedad productos endulzados con este compuesto y también en forma natural para hornear panes y pasteles o preparar postres que no eleven mucho la glucosa (Benjumea et al., 2010).

#### **2.1.3.1.1. El azúcar**

Se denomina azúcar a la sacarosa, cuya fórmula química es  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , llamada «azúcar común» o «azúcar de mesa». La sacarosa, es el azúcar vulgar y corriente de uso doméstico (Garritz & Chamizo, 1998).

El azúcar de mesa o común, es un endulzante de origen natural, sólido, cristalizado, constituido esencialmente por cristales sueltos de sacarosa, obtenidos a partir del tallo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) o de la remolacha

azucarera (*Beta vulgaris L*) mediante procedimientos industriales apropiados (Navarro, 2012).

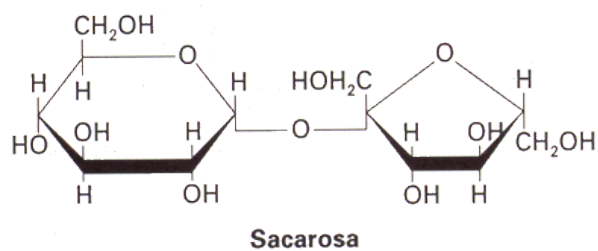


Figura N° 1. Estructura molecular de sacarosa

Fuente. García et al., (2004)

El azúcar de mesa o común prácticamente es 100 % sacarosa se ha utilizado desde 400 a.C. como conservante y edulcorante; actualmente es el azúcar más usado en la alimentación humana. La sacarosa es un disacárido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa. Pertenece al grupo de los hidratos de carbono simples, de los disacáridos, más concretamente (Navarro, 2012).

Constituye una fuente energética de primer orden en la alimentación del hombre actual, se trata de un carbohidrato puro que aporta 4 kcal/gramo. (Navarro, 2012).

#### **2.1.3.1.2. Clases de azúcar**

##### **a) Azúcar prieto**

También llamada "azúcar moreno", "azúcar negro" o "azúcar crudo, se obtiene del jugo de caña de azúcar y no se somete a refinación, solo cristalizado y centrifugado. Este producto integral, debe su color a una película de melaza que envuelve cada cristal. Normalmente tiene entre 96 y 98 grados de sacarosa. Su contenido de mineral es ligeramente superior al azúcar blanco, pero muy inferior al de la melaza. (García, Quintero & López, 2004).

##### **b) Azúcar rubio**

Es menos oscuro que el azúcar moreno o crudo y con un mayor porcentaje de sacarosa. Se disuelve, se le aplican reactivos como fosfatos,

carbonatos, cal para extraer la mayor cantidad de impurezas, hasta lograr su máxima pureza. En el proceso de refinamiento se desechan algunos de sus nutrientes complementarios, como minerales y vitaminas.

### **c) Azúcar blanco**

Constituido por 99,5 % de sacarosa. También denominado azúcar sulfitada es sometido a un proceso de purificación químico (llamado sulfitación), haciendo pasar a través del jugo de caña, gas SO<sub>2</sub>, que proviene de la combustión del azufre. Casi no tiene nutrientes, cuanto más fino y más blanco, más tratado está. (García et al., 2004).

### **2.1.3.2. Edulcorantes artificiales no nutritivos.**

Son moléculas sintéticas, presentan un poder endulzante notorio, son sustancias no relacionadas químicamente con los azúcares y no aportan energía porque no son metabolizados (Raspini & Rinaldi, 2010).

Son sustancias que producen sabor dulce o mejoran la recepción del sabor azucarado (grupos hidroxilo, algunos aminoácidos y algunas sales metálicas); se denominan también edulcorantes no nutritivos o de sabor intenso a concentraciones muy bajas.

Este grupo no aporta kilocalorías al ser consumidos, o bien por la cantidad en que son utilizados, aportan muy pocas kilocalorías, considerando a este valor despreciable, ni sube la glucosa en sangre, no cuentan como carbohidratos, grasas (Arias, 1992).

Siendo los más característicos sacarina, ciclamato, maltodextrinas, aspartame y acesulfame de potásico. En los mencionados edulcorantes intensos la dosis tecnológicamente útil es baja, debido a que su poder edulcorante es alto. Cabe advertir que, dado que la sacarina cruza la placenta, no se la recomienda durante el embarazo (Raspini et al., 2010).

La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés) aprueba el uso de esos edulcorantes de bajas calorías, en tanto que la Asociación Americana de la Diabetes acepta que pueden formar parte de una dieta saludable. Los edulcorantes de bajas calorías son útiles para agregar sabor o dulzor a sus comidas.

#### **2.1.3.2.1. Clasificación de Edulcorantes no nutritivos**

##### **Sacarina (E - 954).**

Es el más antiguo edulcorante, descubierto de manera accidental en 1879; por Ira Remsen y Constantine Fahlberg de la Universidad Johns Hopking y patentada en 1885. El dulce sabor de la sacarina fue descubierta cuando Fahlberg noto un sabor dulce en su mano una noche y se conecta esto con el compuesto que había estado trabajando en ese día. Fahlberg y Remsen publicaron artículos sobre sulfimide benzoico en el 1879 y 1880 (Navarro, 2012).

Fue sintetizada a partir de experimentos con derivados del alquitrán de hulla actualmente se obtiene por sulfonación del tolueno, se comercializa como una sal de sodio, de potasio o de calcio. Fue utilizada de manera muy importante durante la primera y segunda guerra mundial para reemplazar al azúcar que estaba estrictamente racionada en Europa (Rodríguez, 2008).

La sacarina es un polvo blanco incoloro, muy soluble en agua y estable al calor; no calórico y a medios ácidos, por lo que se emplea en la elaboración de productos dietéticos. Aproximadamente 300 veces más dulce, DL50 (Dosis Letal Media) de 0.5 mg/kg/día, deja un sabor residual metálico. En la industria alimentaria se conoce con las siglas E954. Químicamente es una imida o-sulfobenzoica (Navarro, 2012).

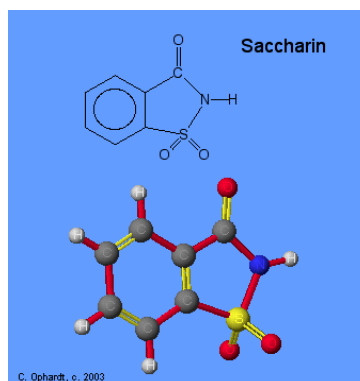


Figura N° 2. Estructura molecular de sacarina

Fuente. C. Ophardt, c. (2003)

Se afirma ser el mejor edulcorante investigado. La sacarina es también conocida como Sweet and Low, Sweet Twin, Sweet'N Low, y Necta Sweet. No contiene ninguna caloría, no altera los niveles de azúcar en la sangre y es de 200 a 700 veces más dulce que la sacarosa (azúcar de mesa).

Puede utilizarse para endulzar alimentos calientes y fríos. Las directrices de la FDA en USA sobre la utilización de la sacarina en bebidas dicen que no se debe exceder de 12 mg/onza líquida (28.413 mililitros) y en los alimentos procesados, la cantidad no debe exceder los 30 mg por porción. La Ingesta

Diaria Admisible (IDA) de la sacarina es de 5 mg/kg de peso corporal (Navarro, 2012).

Se absorbe a nivel intestinal pero no es metabolizada en humanos, además no aporta energía al organismo su excreción es por vía renal. Ha sido sometida a duras críticas provenientes del sector económico azucarero, llegando incluso a relacionar ciertos tumores cancerígenos con la ingesta elevada de sacarina. Gracias a estudios serios realizados en varios países (Dinamarca, Japón, Gran Bretaña y E.E.U.U) se ha demostrado que es falso y que la sacarina no incide en la aparición de ningún tipo de cáncer.

La sacarina se utiliza en los endulzantes de mesa, productos de panadería, mermeladas, goma de mascar, conservas de frutas, dulces, aderezos, postres y aderezos para ensaladas en la elaboración de bebidas refrescantes, en yogures

edulcorados y en productos dietéticos para diabéticos (Navarro, 2012).

### **Ciclamato de sodio (E - 952).**

En 1937, se descubrió el sabor dulce de las sales del ácido ciclamico, por accidente debido a un estudiante de postgrado de la universidad de Illinois.

El ciclamato es un polvo blanco, cristalino, inodoro, de sabor dulce (aproximadamente 30 veces más dulce que el azúcar). Es muy soluble en agua, prácticamente insoluble en benceno, cloroformo, etanol y éter dietílico; el pH de una solución acuosa al 10% es de 5,5-7,5; (Rodríguez, 2008).

Desde el punto de vista químico, es un derivado del ácido sulfámico, es producida por sulfonación de la ciclohexilamina (obtenido por la reducción de la anilina). Su nombre químico es ácido ciclohexilsulfámico, (Rodríguez, 2008).

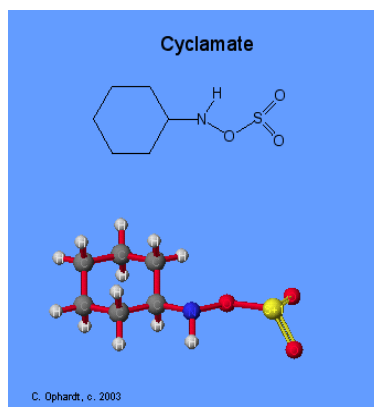


Figura N° 3. Estructura molecular de Ciclamato de sodio.

Fuente. C. Ophardt, c. (2003)

El ciclamato es un aditivo alimentario, que funcionalmente se clasifica como edulcorante. JECFA incluye dos derivados del ciclamato, la sal sódica y la sal de calcio. El ciclamato de sodio, es estable en calor y/o frío. La estabilidad y solubilidad en agua facilita su uso en los productos alimenticios y bebidas (Pérez, 2008).

Debido a que el ciclamato tiene el poder endulzante más bajo de los edulcorantes, se usa en combinación con otros edulcorantes intensos,

para producir un efecto sinérgico que intensifica su sabor. Es un edulcorante artificial no calórico utilizado como aditivo en alimentos debido a su poder endulzante. No se considera un nutriente, su función es reemplazar la sacarosa y conferir el sabor dulce deseado en los alimentos. Es 50 veces más dulce que el azúcar (Jover & García, 2004).

Es 10 veces más barato que el Aspartame. Se utiliza en muchas bebidas, batidos, mermeladas, refrescos y como edulcorante de mesa, por eso es muy importante. Son utilizados como aditivos alimentarios, se clasifican de acuerdo a su función en los alimentos, como edulcorantes sintéticos de bajo poder calórico.

Los ciclamatos tienen amplio uso, la OMS reconoce que actualmente están permitidos en más de 50 países para diversos grupos de alimentos. Se usa en alimentos procesados o productos terminados y por sus características fisicoquímicas

se puede utilizar en forma de tabletas o líquida como endulzante de mesa. También tiene gran uso en bebidas carbonatadas como la gaseosa (Pérez, 2008).

En 1967, el comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios (JEFCA) estableció una IDA de 11mg/kg/día, aunque se considera temporal, ya que cada persona metaboliza esta sustancia en diferentes formas; algunas la eliminan sin ninguna modificación, mientras que otras la hidrolizan el éster liberando ciclohexamida, que es un conocido carcinógeno (compuesto que puede actuar sobre los tejidos vivos de tal forma que produce cáncer), es por eso que se le relaciona con la aparición de CANCER en dosis elevadas por lo que muchos países lo tienen prohibido. La principal ruta de eliminación de los ciclamatos y de la ciclohexamina adsorbida es la orina (Jover et al., 2004).

### **Aspartame (E - 951).**

Descubierto en 1965 por el químico James Schlatter de la compañía G.D. Searle and Co. Él descubrimiento fue por azar, ya que el científico estaba haciendo investigaciones con aminoácidos y trabajando para desarrollar un tratamiento para las úlceras gástricas. Al pasar la lengua por su dedo para escoger un pedazo de papel, degusto un sabor dulce y agradable (Astiasaran, Lasheras, Ariño & Martínez, 2003).

Fue aprobado por la European Food Safety Authority (EFSA), la Food and Drug Administration de los Estados Unidos (FDA) en 1981 y la comisión federal para la protección contra riesgos sanitarios de la secretaria de salud en México (COFEPRIS).

El aspartame es un polvo blanco, cristalino sin olor, se obtiene a partir del éster metílico de la Fenilalanina y del ácido aspártico, 2 aminoácidos constructores de proteínas. Es desdoblado por el

organismo en sus componentes: ácido aspártico, fenilalanina y metanol. Como otros aminoácidos, el ácido aspártico y la fenilalanina proporcionan al organismo 4kcal/g, pero al ser tan dulce, la cantidad utilizada para sustituir al azúcares menor al 1%, por lo que aporte energético es insignificante (Stegink & Filer, 1984).

Es estable en estado sólido, no resiste temperaturas elevadas. Es 150 - 200 veces más dulce que el azúcar, Aporta 4 Kcal/g al igual que el azúcar pero se utiliza mucho menos, IDA (Ingesta Diaria Admisible, es decir que no causará daño en corto o largo plazo) 40 -50mg/kg/día la dosis usual es de 8mg. Su nombre químico es L-alfa-aspartil-L-fenilalanina metil éster y su fórmula química es  $C_{14}H_{18}N_2O_5$  (Astiasaran et al., 2003).

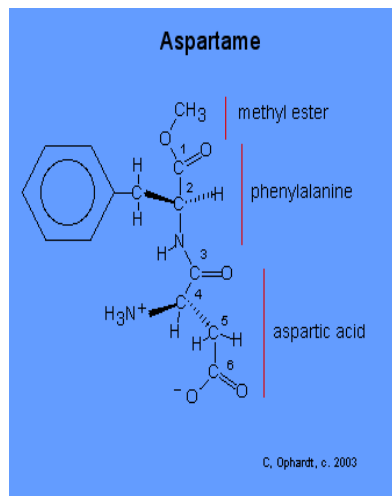


Figura N° 4. Estructura molecular de Aspartame

Fuente. C. Ophardt, c. (2003)

El aspartame es también conocido como Nutrasweet, Equal, y Sugar Twin. Sí tiene calorías, se necesitan muy pequeñas cantidades para endulzar por lo que la ingesta calórica es insignificante. Presenta la propiedad de potenciar el poder endulzante de otros edulcorantes, posee una fuerte sensación dulce muy parecida a la de la sacarina y desprovista de sabor residual, es relativamente estable en medio ácido, pero resiste mal el calentamiento fuerte, por lo que presenta

problemas para usarse en repostería (Stegink et al., 1984).

Se utiliza como ingredientes en goma de mascar, cereales fríos para el desayuno, gelatinas y pudines. Se incluía en las bebidas carbonatadas en 1983. En 1996, la FDA aprobó su uso como edulcorante de "propósito general", y puede ser ahora encontrada en más de 6.000 alimentos (Astiasaran et al., 2003).

La cantidad de aspartame en los alimentos más comunes es:

- 8 oz (227.3 ml) bebidas en polvo 100 mg de aspartame.
- 8 oz yogur 80 mg de aspartame.
- 4 oz postre de gelatina 80 mg de aspartame.
- $\frac{3}{4}$  de taza de cereales con azúcar 32 mg de aspartame.
- 1 paquete de Equal 22 mg de aspartame.
- 1 comprimido de Equal 19 mg de aspartame.

Es uno de los más estudiados por los constantes ataques a su seguridad alimentaria; pero hasta ahora siguen saliendo investigaciones que afirman su carcinogenicidad en ratas.

Dosis altas de aspartame producen cambios en algunos parámetros bioquímicos como aminoácidos en plasma, pero los estudios de seguridad realizados en ratones, perros y humanos (incluyendo menores de un año, niños, adolescentes, mujeres lactantes y adultos sanos) no muestran efectos adversos agudos, subagudos ni crónicos de estos aminoácidos, ni de sus productos de descomposición. Tampoco se han demostrado cambios en la fisiología incluso a dosis tan altas como 4000mg/kg/día (Astiasaran et al., 2003).

Las concentraciones de sus componentes metabólicos a dosis de 50 mg/kg/día no exceden las encontradas después de una alimentación normal. Existe la preocupación de la cantidad de metanol

que realmente se produce en la digestión y absorción del aspartame y la posible toxicidad del mismo. Dado que la conversión de metanol a formaldehído y de allí a ácido fórmico es tan rápido en el organismo, y que la sustancia potencialmente nociva sería el formaldehído, no es de esperarse la acumulación del mismo en el hígado (Voet, Voet, Pratt, 2008).

Para que existiera toxicidad tendría que haber acumulación de ácido fórmico. La dosis más pequeña de metanol asociada es de 126 mg/dl. A nivel celular, el ácido fórmico, derivado del metabolismo del formaldehído, es utilizado en la síntesis de los nucleótidos de ácido desoxirribonucleico (ADN) y se calcula que en el cuerpo humano se metaboliza diariamente más de 50000 mg de formaldehído por minuto, de manera que su acumulación a consecuencia de la ingestión de aspartame y productos que lo contienen resulta

no solo improbable, sino casi imposible (Stegink et al., 1984).

Tabla N° 1. Contenido de Ac aspártico, fenilalanina y metanol en alimentos comunes.

<b>Producto</b>	<b>Fenilalanina (mg)</b>	<b>Ac. Aspártico (mg)</b>	<b>Metanol (mg)</b>
Bebida dietética con aspartame 12 oz.	90	72	18
Leche 12 oz	606	888	-
Plátano mediano	58	146	21
Jugo de naranja 12 oz	36	276	23
Jugo tomate 12 oz.	58	346	107

Fuente. EFSA Journal, (2011)

### **Acesulfame de potasio (E 950).**

Fue descubierto y desarrollado en Alemania por los químicos Karl klaus y Harald Jenssen en Hoechst Company, A.G. en 1967, por casualidad mientras se realizaban estudios de síntesis de un nuevo anillo heterocíclico para otros fines (Rodríguez, 2008).

Es derivado del ácido acetoacético, pertenece a la familia de los dióxidos oxatiazinonas, se trata de un edulcorante no calórico sintético; su fórmula es 5,6-dimetil-1,2,3-oxatizaina-4(3H)-ona-2,2-dioxido.

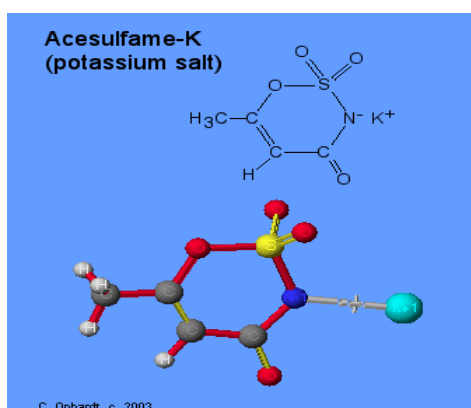


Figura N° 5. Estructura molecular de acesulfame de potasio.

Fuente. C. Ophardt, c. (2003)

Es la sal potásica del ácido acesulfámico, aprobada por la EFSA y la FDA en 1988. Presenta una gran estabilidad en el tiempo, temperatura, no calórico y fácilmente soluble en agua, resistente a altas temperaturas y estable en soluciones con un pH >3. IDR: 0-9 mg/kg/día (Camean & Repetto, 2006).

Es 200 veces más dulce que la sacarosa, con una gran estabilidad ante los tratamientos tecnológicos y durante el almacenamiento. Se utiliza a menudo como un potenciador de sabor o para preservar la dulzura de los alimentos dulces. La FDA ha establecido una ingesta diaria admisible (IDA) de hasta 15 mg / kg de peso corporal / día. (Astiasaran et al., 2003).

Es estable al calor y puede utilizarse para cocinar. En el aspecto biológico, el acesulfamo de potasio se absorbe en el intestino delgado y es excretado por vía renal en menos de 24 horas, no se metaboliza en el organismo humano, excretándose

rápidamente sin cambios químicos, por lo que no tiende a acumularse, por lo que no produce energía oxidativa.

En el mercado lo ubica por los nombres Sweet One, Swiss Sweet o Sunett. La mayoría ni siquiera es consciente de que este, es un edulcorante no nutritivo que se utiliza en sus alimentos y bebidas.

El acesulfame K contiene carcinógenos como el cloruro de metileno. La exposición prolongada al cloruro de metileno puede causar dolores de cabeza, depresión, náuseas, confusión mental, efectos en el hígado, efectos renales, disturbios visuales, y cáncer en seres humanos. Ha habido una gran oposición al uso de acesulfame K, sin más pruebas, pero en este momento, la FDA no ha requerido que estas pruebas se hagan (Camean et al, 2006).

Presenta sabor metálico y amargo a altas concentraciones, pero el umbral de percepción del sabor amargo puede depender del contenido particular del sistema alimenticio en que se encuentre.

Se utiliza en toda clase de bebidas, menos alcohólicas, y en toda clase de industria de la alimentación, además de la industria confitera. (Astiasaran et al., 2003).

#### **2.1.4. Importancia del uso de edulcorantes.**

Los edulcorantes de bajas calorías mencionados pueden ayudar a las personas con sobrepeso o con diabetes a reducir la ingesta de calorías y a mantenerse dentro de un plan de alimentación saludable. Además, esos edulcorantes son útiles para reducir el aporte de calorías y carbohidratos cuando se los utiliza en lugar del azúcar para endulzar café, té, cereales y frutas. No obstante, algunos alimentos o productos sin azúcar que utilizan edulcorantes de bajas calorías poseen en realidad más

calorías y más grasas que las versiones que contienen azúcar.

Los beneficios de los ENC incluyen la elaboración de productos dietéticos, la reducción del valor energético de alimentos, el evitar añadir azúcares, la provisión de una bajo índice glucémico al alimento y un posible beneficio en pacientes con hipoglucemia reactiva (Meléndez, 2008).

Tabla N° 2. Edulcorantes artificiales

<b>IDA S/ENN</b>	<b>FDA (mg/Kg)</b>	<b>FAO/OMS (mg/Kg)</b>
Sacarina	5	5
Ciclamato	No aprobado	11
Acesulfame- k	15	15
Aspartamo	50	40
sucralosa	15	15

Fuente. Raspini *et al.*, (2010)

### **2.1.5. Uso de edulcorantes artificiales por la industria.**

La industria de alimentos y bebidas, está reemplazando de forma creciente, el azúcar o el jarabe de maíz por endulzantes artificiales en muchos productos que tradicionalmente contenían azúcar. En el Reino Unido por ejemplo, actualmente es casi imposible encontrar algún refresco en los supermercados que no esté endulzado con edulcorantes artificiales. Aunque el margen de ganancias sobre los endulzantes artificiales es extremadamente alto para los fabricantes, estos todavía le cuestan a la industria de alimentos sólo una fracción del costo del azúcar y del jarabe de maíz (Garritz et al., 1998).

De acuerdo con la analista de mercado Mintel, un total de 3920 productos que contienen endulzantes artificiales fueron lanzados en los Estados Unidos entre 2000 y 2005. En el 2004 solamente, 1649 productos endulzados artificialmente fueron lanzados de acuerdo al analista de mercado Freedoniasino, el mercado americano de endulzantes artificiales creció alrededor de 8% por año hasta llegar a 189 millones de dólares en 2008.

### **2.1.6. Aplicaciones de los edulcorantes en la industria alimentaria.**

- Se usan para aportar dulzor a un producto.
- Neutralizar sabor astringente (en jugo de uva) y picante (chocolate).
- Aprovechar el efecto preservativo (por su higroscopicidad), por lo que se reduce el crecimiento microbiano.
- En carnes curadas se emplean para aportar efecto preservativo y realzar sabor.
- Se emplean como fuente de carbono para levaduras y otros microorganismos, en procesos de fermentación (ejemplo en panificación, bebidas alcohólicas, vinagre, etcétera).
- Contribuyen en el desarrollo de color y sabor en productos de panificación, cajeta, etc., debido a reacciones de caramelización y de oscurecimiento de Maillard.
- Proveen cuerpo, palatabilidad y textura en jarabes, dulces, helados, productos de panificación, etc.

- Mezclas de edulcorantes ayudan a mejorar propiedades funcionales, tales como el control del punto de congelación en productos congelados, cristalización en helados y dulces.
- Se mezclan en pequeñas cantidades con edulcorantes no nutritivos para enmascarar sabor picante y/o resabio, así como para proveer cuerpo al producto (García et al., 2004).

#### **2.1.7. Cantidades recomendadas de edulcorantes**

Para su uso en la industria alimentaria, los edulcorantes deben cumplir una serie de requisitos deben ser absolutamente inocuos, su sabor dulce debe percibirse rápidamente y desaparecer rápidamente, además de ser muy parecido al del azúcar común, sin regustos, y resistir las condiciones del alimento en el que se va a utilizar, así como los tratamientos a los que se vaya a someter.

A muchos alimentos se les agregan a través de procesos industriales sustancias para preservarlos o mejorar sus propiedades. Las autoridades sanitarias establecen los niveles máximos de esos aditivos que pueden ser

incorporados a un producto y la cantidad máxima que una persona puede consumir sin poner en riesgo la salud (ingesta diaria admisible).

#### **2.1.7.1. Ingesta Diaria Admisible (IDA).**

La administración de alimentos y medicamentos de los EE.UU. (FDA), previa a la aprobación del producto, realiza costosos estudios de laboratorio, donde se demuestre su inocuidad ante las distintas pruebas a que son sometidos. Una vez que es aprobada la seguridad de un aditivo alimentario y que las reglamentaciones vigentes reconocen su uso como válido, se determina la cantidad diaria que se puede usar (IDA) (Astiasaranet al., 2003).

IDA es una estimación efectuada por el JECFA (comité mixto de expertos en aditivos alimentarios) acerca de la cantidad de un aditivo alimentario, expresada en relación corporal, que una persona puede ingerir diariamente durante toda su vida sin correr riesgos apreciables para su salud (Astiasaranet al., 2003).

La IDA se representa normalmente en unidades de nivel de 0-x miligramos al día por kilogramo de peso corporal. La IDA protege la salud de los consumidores y es regulada por comités científicos de expertos que son los que asesoran a las autoridades reguladoras Nacionales e internacionales sobre los niveles de IDA por aditivo.

También se puede decir que es la centésima parte de una sustancia que suministrada diariamente, no es capaz de provocar daño. Esto significa que, independientemente de que no haya una relación entre edulcorantes y cáncer en seres humanos, su consumo, no debe ser excesivo.

Tabla N° 3. Ingesta Diaria Admisible para edulcorantes no calóricos

<b>ENC</b>	<b>IDA(mg/kg de peso)</b>
Acesulfame K.	40
Aspartame	15
Ciclamato de sodio	11
Sacarina	5
Sucralosa	15

Fuente. Modificado de Tandel K, J Pharmacology and Pharmatherapy. (2011)

Una de las fuentes más importantes de edulcorantes no nutritivos en la alimentación actual son las gaseosas o jugos light. Por ejemplo, un vaso de una gaseosa light de primera marca tiene 24 mg de aspartame y 16 de acesulfame K, mientras que la ingesta máxima admisible por día de esos edulcorantes es de 2800 y 1050 respectivamente, para una persona de 70 kilos de

peso. Esto significa que las cantidades que consume un adulto promedio son inferiores al límite permitido.

No obstante, la cantidad de edulcorante en un producto varía notablemente de acuerdo a cada marca, y algunas gaseosas de segunda marca pueden tener una concentración tal que para niños de bajo peso sólo permitiría tomar uno o dos vasos para no superar la ingesta máxima admitida.

## **2.2. Clasificación científica.** Según Berkenhout, 1769.

**Reino:** *Animalia*

**Filo:** *Chordata*

**Clase:** *Mammalia*

**Orden:** *Rodentia*

**Suborden:** *Myomorpha*

**Familia:** *Muridae*

**Género:** *Rattus*

**Especie:** *R. norvegicus*

**Variedad:** *Wistar.*

### **2.2.1. Rata Wistar como modelo animal.**

Las consideraciones éticas y de sentido común restringen la investigación en humanos, desde los principios de la biología, la utilización de animales como reactivos biológicos en el ámbito de la investigación científico ha sido fundamental para el establecimiento de nuevos postulados y la constante validación de los mismos. Es así, como el desarrollo en las áreas biomédicas, está directamente relacionado con el nivel de desarrollo de la tecnología y experimentación animal. Por esta razón, el uso de modelos animales para el estudio de enfermedades ha jugado un papel importante en entender los procesos de la misma y han sido de gran valor para el diseño y evaluación de regímenes de tratamiento (Olazo, 2010).

La rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*) ha sido usada como modelo para investigaciones médicas, biológicas, moleculares, etc. Desde hace mucho tiempo, es la especie más empleada en investigaciones biomédicas teniendo en cuenta el volumen de información existente acerca de ella. En el año 1999 alrededor de 2,6 millones de ratas

(27% de los animales usados) fueron utilizados en la comunidad Europea (Shafir et al., 1999).

Rata Wistar, se trata de una línea albina de la rata parda. Fue desarrollada en el Wistar institute en 1906 para fines de investigación biomédica y biológica, se trata de la primera rata empleada como organismo modelo (anteriormente se trabajaba con el ratón). Hoy por hoy, la mitad de las ratas de laboratorio existentes derivan de la población generada por el fisiólogo Henry Donaldson, el administrador Milton. J. Greenman, y el genetista y embriólogo Helen Dean King.

Las ratas provenientes del Instituto Wistar (conocidas genéricamente como ratas Wistar) han contribuido, más que ningún otro grupo, con el mayor número de líneas descendientes. Entre las líneas consanguíneas de rata más populares podemos enumerar a las líneas F344, LEW, ACI, BN, WKY y PVG.

### **2.2.2. Rattus norvegicus.**

Rattus es un género de roedores miomorfos de la familia Muridae, conocidos comúnmente como ratas. Son roedores de mediano tamaño que no sobrepasan los 300 g de peso y los 30 cm, más una cola de similar longitud. Las patas anteriores son cortas y con cuatro dedos (el pulgar, rudimentario) y las posteriores, más largas, con cinco dedos (Olazo, 2010).

### **2.2.3. Características generales y biológicas de la rata Wistar.**

La rata Wistar utilizada en este proyecto, es actualmente una de las cepas de ratas más populares utilizados en los experimentos de laboratorio. Fue producida por primera vez por H.H. Donaldson a principios de este siglo en el Instituto Wistar de E.U.A y hasta la fecha sigue siendo un animal altamente utilizado.

Esta perfectamente caracterizada desde el punto de vista anatómico, fisiológico y genético, se reproduce sin complicaciones, son animales muy adaptables, fáciles de cuidar y manejar.

Es posible producirlas libres de gérmenes y de enfermedades con lo cual se reduce la principal variable no controlada que invalida la investigación con animales.

Son de hábitos nocturnos, los sentidos del olfato y audición están muy desarrollados, la rata puede oír altas frecuencias. Presenta una visión pobre. Posee receptores táctiles desarrollados sobre la cabeza, alrededor del hocico, en las patas y sobre la cola. La cola es utilizada para la orientación sobre el terreno y equilibrio durante el salto; sirve como principal órgano de regulación de temperatura. La circulación sanguínea de la cola aumenta cuando el animal necesita eliminar calor de su cuerpo. El promedio del peso de un macho adulto es de 250 a 520g, las hembras son más chicas y tienen una vida de 2.5 a 3.5 años; en los grupos de machos raramente se observa agresividad (Landete & Cerro, 1998).

#### **2.2.4. Características morfológicas.**

Las ratas son roedores de cuerpo alargado, hocico puntiagudo y orejas largas que alcanzan el borde del ojo al estirarse hacia delante. La cola es alargada, delgada y tiene una longitud que es siempre menor que la longitud del cuerpo; los ojos y las orejas son grandes y el pelaje espeso y de color variable, dependiendo de la especie. El vientre es siempre más claro; la línea de separación no está muy bien definida, pero es visible.

Las hembras poseen cinco pares de mamas, dos pectorales y tres inguinales. Las hembras son ligeramente más pequeñas que los machos. Su dentición consta de 32 piezas, presentando tanto en la mandíbula superior como en la inferior, 2 incisivos, de crecimiento continuo y 6 molares; carecen de colmillos y premolares. La cola es una excelente herramienta que sirve para controlar sus saltos, como barra de equilibrio cuando caminan sobre tubos, cables o cuerdas y para equilibrarse mientras nada (Landete et al., 1998).

El tamaño varía en las diferentes especies. La mayoría de las especies de *Rattus* pesan entre 95 y 240 gramos y tienen una longitud de 17 a 21 cm. Una de las especies más pequeñas es *Rattus osgoodi*, endémica del sur de Vietnam, con un cuerpo de 12 a 17 cm. En el lado opuesto se halla la rata de cola blanca de célebes (*Rattus xanthurus*) que mide de 19 a 27 cm con una cola de hasta 34 cm de longitud.

La mayoría de las especies del género tienen un pelaje corto, denso y suave. En algunas especies, el pelaje puede ser más grueso y largo, algo lanoso o por el contrario, áspero. En otras, como la mencionada *R. xanthurus*, y la rata de Sikkim (*Rattus remotus*), presentan pelos largos y delgados similares a bigotes en la zona del lomo y las caderas que se extienden de 4 a 6 cm por encima del pelaje.

El patrón básico de coloración del género es el dorso de color pardo amarillento, salpicado de color marrón oscuro a negro y moteado de ocre y el vientre de color gris plateado a gris oscuro, a veces teñido de tonos ocre. La cola, las

orejas y las patas son de color marrón oscuro. Del mismo modo que la textura del pelaje, el color también es variable. (Landete et al., 1998).

*Rattus remotus* tiene el lomo de color marrón y el vientre de color blanco puro. *Rattus nitidus*, una rata de campo del Himalaya, tiene el lomo marrón, el vientre gris y las patas de color blanco. Otras especies tienen pelaje oscuro, como *Rattus lugens* nativa de las costas de Sumatra, que presenta un lomo de color marrón oscuro a negro y un vientre grisáceo. A pesar de que la cola es de color gris a negro en la mayoría de las especies, algunas muestran un patrón dos colores. Así en *R. nitidus* y *Rattus turkestanicus*, la cola es marrón en la parte de arriba y de un color más claro o blanco en la parte de abajo. El patrón bicolor puede ser de otro tipo, el tercio basal o la mitad de la cola de color marrón y el resto uniformemente blanco, como ocurre en la rata de cola blanca de Célebes (*Rattus hoogerwerfi*). (Landete et al., 1998).

### **2.2.5. Reproducción.**

Las crías recién nacidas nacen sin pelo, ciegas y sin capacidad auditiva.

El coito dura solamente de dos a tres segundos, y tras una gestación que dura aproximadamente un mes, la rata pare de cinco a veintidós individuos, que deposita en el interior de la madriguera o nido, donde acondiciona un lecho con restos de materia vegetal y pelo, naciendo desnudos, con los ojos cerrados, sin pelo, sin capacidad auditiva y pesando tan solo 5 ó 6 gramos. En cuanto a madurez sexual se refiere, son precoces: la hembra es activa sexualmente a las cinco o seis semanas. Los machos precisan unos días más para alcanzar la madurez sexual (Landete et al., 1998).

### **2.2.6. Distribución mundial.**

El género *Rattus* alberga entre 56 y 65 especies, dos de ellas, la rata parda (*Rattus norvegicus*) y la rata negra (*Rattus rattus*) son las especies de mayor distribución mundial de ecología marcadamente periurbana, son casi

cosmopolitas, faltando sólo en los polos; se han extendido por toda la Tierra junto con el ser humano, aprovechando los desplazamientos por barco para colonizar nuevos territorios. Existen evidencias fósiles de *R. Rattus* desde el Pleistoceno. No obstante la mayoría de las especies del género tienen distribuciones geográficas restringidas. (Landete et al., 1998).

Numerosas especies del género *Rattus*, originarias de Asia, se hallan hoy dispersas por casi todo el planeta, principalmente en las zonas habitadas por el hombre. Esto no es imputable a la negligencia por parte de éste, sino a la extraordinaria vitalidad y capacidad de adaptación de tales múridos que a veces son vehículo de graves enfermedades.

Probablemente son originarias de Asia, en concreto India y Persia. Tal vez Heliano conocía ya a la rata parda, a la que daba el nombre de "ratón caspio". El primero que describió a este roedor como animal establecido en Europa fue Pallas, quien explicó cómo, tras un violento terremoto, las ratas emigró a Europa desde orillas del Mar Caspio.

Alberto Magno fue el primer naturalista en citarla entre los animales de Alemania (Landete et al., 1998).

#### **2.2.7. Habilidades.**

Incisivos de un ejemplar de *R. norvegicus*. El grado de desarrollo de los inferiores permanece en continuo crecimiento durante la vida del animal. Estos roedores son muy ágiles, trepan hábilmente y logran incluso subir por las paredes más lisas, nadan muy bien, son buenos saltadores y son capaces de cavar, aunque esto último no con mucha perseverancia. Se orientan perfectamente en la oscuridad. La flexibilidad de su esqueleto les permite introducirse en las viviendas por agujeros estrechos. Su capacidad de morder diversos materiales es tal que les permite perforar desde madera a una tubería de plomo. Soportan temperaturas de hasta -30 °C. Sus sentidos están muy desarrollados, sobre todo el oído, el olfato y el gusto (Slotnik, Kufera & Silberberg, 1991).

No pueden distinguir colores (esto es, son daltónicas), aunque algunos de ellos, como el amarillo, pueden llegar a atraerlas visto como un gris ligero. Una prueba de que la

vista no es un sentido vital para estos animales la da el hecho de que ratas ciegas puedan continuar su vida casi con normalidad. En cuanto a sus capacidades cognitivas, se caracterizan por su astucia, como ya demostró Dalla Torre en 1880, quien pudo observar cómo las ratas se llevaban huevos sin romperlos. (Greaves, 1982).

### **2.3. Determinaciones bioquímicas.**

#### **2.3.2. Glucosa.**

La glucosa es un monosacárido con fórmula molecular  $C_6H_{12}O_6$ . Es una hexosa, contiene 6 átomos de carbono y es una aldosa, pues el grupo carbonilo está en el extremo de la molécula (es un grupo aldehído). Es una forma de azúcar que se encuentra libre en las frutas y en la miel. Su rendimiento energético es de 3,75 kilocalorías por cada gramo en condiciones estándar. Es un isómero de la fructosa, con diferente posición relativa de los grupos -OH y =O.

La glucosa, libre o combinada, es el compuesto orgánico más abundante de la naturaleza. Es la fuente primaria de síntesis de energía de las células, mediante su oxidación

catabólica, es el componente principal de polímeros de importancia estructural como la celulosa y de polímeros de almacenamiento energético como el almidón y el glucógeno.

La glucosa es transportada a través de la pared intestinal hacia la sangre que circula por la vena porta y a través de esta llega al hígado. Asimismo pasa al torrente sanguíneo principal uniéndose a la sangre que circula hacia la periferia del organismo. Para que la glucosa sea metabolizada (usada para obtener energía) o almacenada para su posterior utilización, es necesario que penetre en el interior de las células.

La insulina permite la entrada rápida de glucosa en la célula y de hecho se puede decir que la tasa metabólica de glucosa en el organismo para diversos propósitos está controlada por la cantidad de insulina producida en el páncreas (Ortega- Pinilla, 1992).

Las células lo utilizan como fuente primaria de energía y es un intermediario metabólico. La glucosa es uno de los principales productos de la fotosíntesis y combustible para la respiración celular (Ortega- Pinilla, 1992).

La medición de la glucosa sanguínea es importante en el diagnóstico y tratamiento de la diabetes y otras patologías, tales como hipoglicemia y problemas renales, entre otras.

### **2.3.3. Triglicéridos.**

Los triglicéridos, también denominadas grasa neutras, son ésteres de glicerol sin carga eléctrica y su función es actuar como compuestos de energía altamente concentrada. Piénsese en ellos como compuestos de tipo hidrocarburo muy compactos por su insolubilidad. De hecho, por esa característica pueden almacenarse en gran cantidad; a diferencia de los depósitos de azúcares y otras sustancias solubles que requieren almacenarse junto a grandes cantidades de agua (Hernández, 2010).

Se forman por hidrólisis de grasa ingerida en la dieta a nivel de lumen intestinal siendo absorbidos por la mucosa intestinal, los ácidos grasos libres se convierten en triglicéridos por los mismos mecanismos, o bien para ser transportados o para depositarse en el tejido adiposo (McGilvery, 1997).

El intestino y el hígado sintetizan triglicéridos para la exportación a otros tejidos, mientras que el hígado adiposo sintetiza triglicéridos para almacenarlos como reserva. Por lo tanto los triglicéridos que se encuentran en el plasma proceden tanto del hígado como del intestino y nunca del tejido adiposo (Hernández, 2010).

Su evaluación es importante para el diagnóstico y seguimiento de las hiperlipidemias ya sean de origen genético o secundario a otras enfermedades. Valores elevados aumentan el riesgo de arterioesclerosis y de enfermedad coronaria.

#### **2.3.4. Colesterol total.**

El colesterol es una sustancia inherente a la existencia de nuestra especie, es una molécula grasa absolutamente necesaria para el organismo de los animales en general y de la especie humana en particular.

La molécula de colesterol forma parte de todas las membranas de las células y de sus estructuras interiores. Las células son las unidades vivas que forman los organismos como el nuestro. Tienen un núcleo que contiene toda la información genética y un citoplasma que lo rodea que contiene los alimentos y elementos necesarios para su funcionamiento (Masana, 2009).

El colesterol es un lípido de gran importancia tanto para la morfología como para la fisiología de la célula, así como para el correcto desarrollo de los organismos, pues es uno de los constituyentes principales de las membranas celulares y un importante precursor de las hormonas esteroideas, de los esteroides fecales y de los ácidos biliares. Los organismos superiores tienen dos vías de adquisición del colesterol, ya sea mediante la dieta o bien,

si la dieta no lo contiene tienen la capacidad de sintetizarlo a partir de Acetil-CoA (Masana, 2009).

En el hígado se lleva a cabo la regulación de la homeostasis del colesterol el cual desempeña muchas funciones en el organismo, incluyendo el ser:

- Un componente esencial de las membranas celulares.
- Un precursor de los 5 tipos principales de hormonas esteroideas: progestágenos, estrógenos, andrógenos, glucocorticoides y mineralcorticoides.
- Un precursor de la vitamina D.
- Precursor de los ácidos biliares.

El colesterol es eliminado del organismo en forma de ácidos biliares, siendo el hígado el órgano central de la regulación de la homeostasis del colesterol. La transformación de colesterol en ácidos biliares se puede llevar a cabo por 2 vías diferentes: la neutra (conocida también como clásica) y la ruta ácida (o alterna). En la primera, el primer paso y el más importante es la hidroxilación en la posición 7 del colesterol, reacción catalizada por la enzima 7 alfa-hidroxilasa (CYP7A1) que

constituye la reacción limitante en la síntesis de ácidos biliares y la ruta ácida, que tiene como reacción limitante a la enzima 27 alfa-hidroxilasa (CYP27A1).

El colesterol se encuentra en la sangre, bilis y tejido cerebral. Su determinación contribuye al diagnóstico y clasificación de las dislipidemias.

#### **2.3.5. Calcio.**

El calcio es el catión más abundante, así como el quinto elemento más común en el organismo humano. Es junto con la proteína, el elemento estructural más importante, participando, combinado con el fósforo, en la formación del hueso y el diente (más del 99% del Ca total corporal se encuentra en el esqueleto). Así, en el desarrollo y mantenimiento del hueso es el mayor determinante de las necesidades de Ca. Además, interviene en multitud de funciones, como la conducción nerviosa, la contracción muscular, la coagulación sanguínea, la permeabilidad e integridad de las membranas celulares, las secreciones glandulares, (Hernández, Sastre, 1999).

Debido a la importancia de todos estos aspectos, es de enorme interés identificar factores que puedan afectar la disponibilidad del calcio en la dieta, modificando su utilización y estatus nutritivo (Hernández et al., 1999).

Aproximadamente el 45 % del calcio corporal está unido a proteínas séricas, un 5 % se encuentra en forma no ionizada y el restante 50% se encuentra ionizado, esta última fracción es la activa, en términos de función biológica.

El calcio es esencial en la mayoría de las reacciones de la coagulación sanguínea y en la regulación de la excitabilidad de las fibras musculares (Hernández et al., 1999).

Su concentración en suero y orina está regulada por la acción de factores tales como niveles de parathormona, vitamina D y fosforo, observándose fluctuaciones fisiológicas debidas a edad, sexo, embarazo, actividad física cambios estacionales (por acción de la luz solar).

### **III. MARCO METODOLÓGICO.**

#### **3.1. Área de estudio.**

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Análisis Biológicos y Bioterio de la Escuela Académica y Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias UNSA Arequipa durante el periodo de enero, febrero y marzo del 2014.

#### **3.2. Muestra.**

Para la experimentación se emplearon 20 ratas, machos albinas de *Rattus norvegicus* var. Wistar, de 5 a 6 meses de edad, con un peso promedio de 250 a 280 g.

Los cuáles fueron adquiridos del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

#### **3.3. Tipo de Estudio**

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental.

#### **3.4. Variables**

Variable independiente: Son los diferentes edulcorantes.

Variable dependiente: Son la glucosa, colesterol, triglicéridos, calcio y el peso corporal.

El diseño experimental es unifactorial, tiene 4 niveles = 4 tratamientos x 5 repeticiones = 20 unidades experimentales.

Cuadro N° 1. Operacionalización de variables.

VARIABLE	CORRELACION	INDICADORES	DEFINICIÓN
Sacarina	Independiente	ml	La alícuota medida en mililitros suministrada a las ratas Wistar.
Ciclamato de sodio	Independiente	ml	La alícuota medida en mililitros suministrada a las ratas Wistar.
Sacarosa "azúcar rubia"	Independiente	ml	La alícuota medida en mililitros suministrada a las ratas Wistar.
Peso	Dependiente	g	Valor de la masa corporal de las ratas Wistar expresada en gramos.
Glucosa	Dependiente	mg/dl	Concentración de glucosa en sangre en miligramos/decilitros.
Colesterol	Dependiente	mg/dl	Concentración de colesterol en sangre en miligramos/decilitros.
Triglicéridos	Dependiente	mg/dl	Concentración de triglicéridos en sangre en miligramos/decilitros.
Calcio	Dependiente	mg/dl	Concentración de calcio en sangre en miligramos/decilitros.

Fuente. Elaboración propia.

### 3.5. Diseño experimental.

Se utilizó el diseño completamente al azar. Las ratas Wistar fueron asignadas aleatoriamente y clasificadas de la siguiente manera:

- El grupo control, se les administro agua de caño ad libitum durante 52 días.
- El grupo de ratas tratadas con diferentes edulcorantes.

Cuadro N° 2. Dosis de Tratamientos

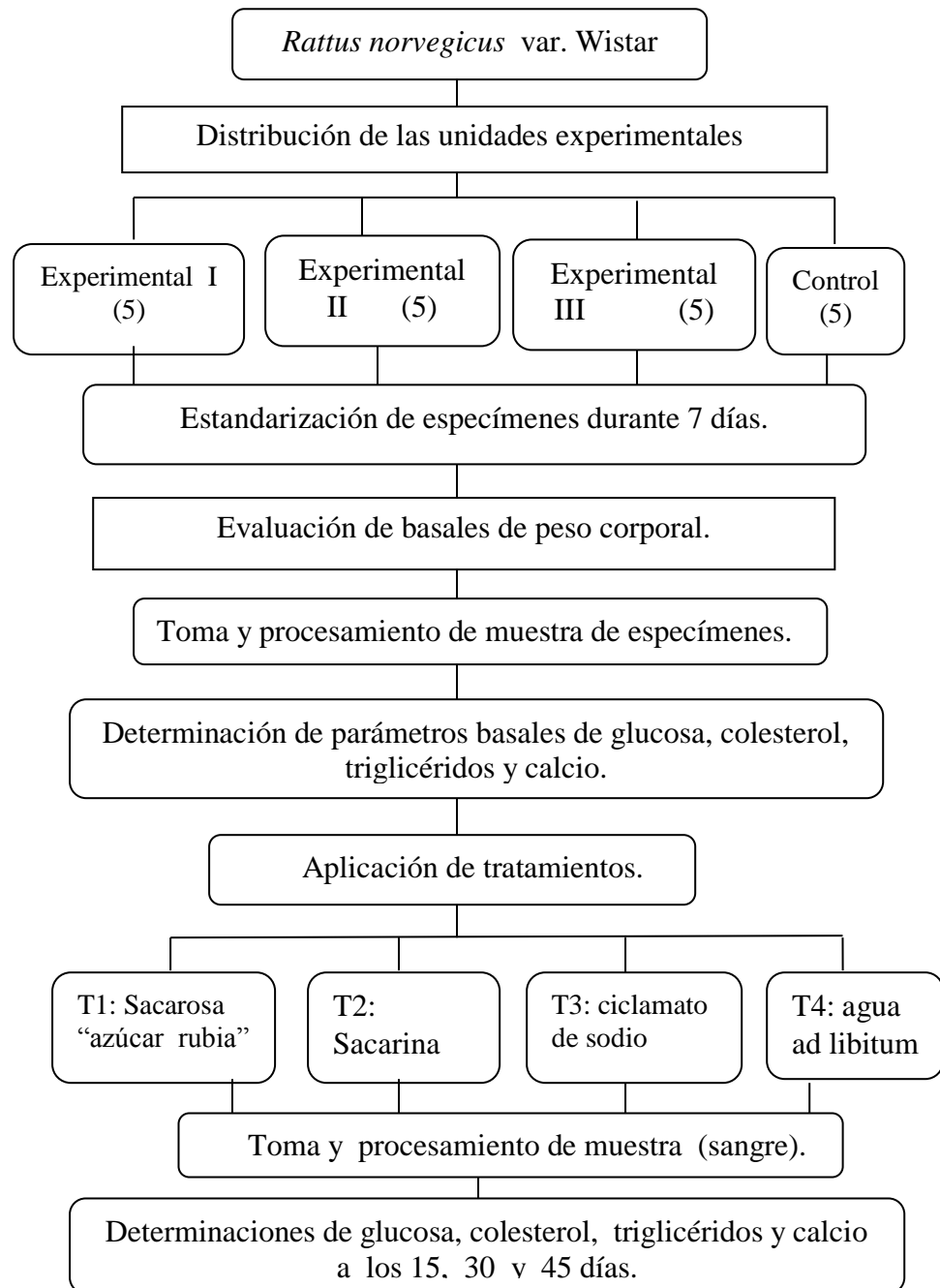
Tratamientos	Unidades de experimentación	Dosis (g/kg/día)
T1: Sacarosa "azúcar rubia".	5	0,75
T2: Sacarina.	5	0,20
T3: Ciclamato de sodio.	5	0,07
T4: Control.	5	"ad libitum"
<b>TOTAL</b>	20	

Fuente. Elaboración propia

A cada rata se le administro 20 ml de edulcorante durante 45 días en 4 dosis de 5 ml/día. Las soluciones fueron administradas por vía oral, mediante la aplicación de sonda

orogástrica (sonda conectada a una jeringa de plástico graduada).

### 3.6. Protocolo.



### **3.7.Procedimiento y análisis de Laboratorio.**

#### **3.7.1. Metodología de crianza.**

La crianza se llevó a cabo en el Bioterio de la UNSA a una temperatura de 22 °C a 29 °C. En la semana uno fueron colocadas las ratas Wistar en jaulas de malla metálica, 5 especímenes por jaula. La jaula contenía 4 compartimentos, cada compartimento contenía un bebedero y un depósito para su comida. La jaula fue debidamente rotulada (con cinta masquentei), siguiendo la respectiva distribución y orden.

La primera semana de evaluación se le dio una dieta normal a las 20 ratitas, dándole como alimento NICOVITA, el alimento se le suministraba 2 veces al día sin restricciones al igual que el agua, durante las mañanas se realizaba la limpieza de las jaulas y se le extraía el papel periódico, con la finalidad de evitar la acumulación de heces, orina y por las tardes de igual manera se realizaba la respectiva limpieza de las jaulas y se le suministraba agua y comida, esto durante 7 días para establecer una dieta estándar.

### **3.7.2. Análisis de laboratorio.**

Se realizó en el Laboratorio de Análisis Biológicos de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias UNSA.

Una vez ya estandarizados los 20 especímenes de *Rattus norvegicus* var. Wistar, estos fueron pesados y marcados en la base de la cola, para facilitar su identificación (utilización de 3 marcadores diferentes).

Para obtener el peso inicial de cada uno, se utilizó una trampa de madera y una balanza marca CAMRY, se calculó el peso de la trampa de madera, se estandarizó (taro) y luego se colocó a la rata dentro de la trampa, esta fue colocada en la balanza para así obtener el peso en gramos.

### **3.7.3. Obtención y procesamiento de la muestra.**

Para la obtención de los datos basales (iniciales) de glucosa, triglicéridos, colesterol y calcio, se obtuvieron muestras de sangre de la vena de la cola de cada uno de las ratas Wistar, en previo estado de ayuno (15 horas), para lo cual primero se desinfectó la zona con una

torunda de algodón humedecido con alcohol yodado como antiséptico al inicio y al final de la toma de muestra.

Las ratas Wistar fueron colocadas dentro de la trampa de madera, de donde solo debe sobresalir la cola, luego se frota con la mano hacia abajo, para provocar acumulación de sangre en esa zona y con una hoja de bisturí se realizó un corte rápido (al ras) aproximadamente de 1mm de la punta de la cola (extremo distal), esperando el flujo libre de la sangre.

La sangre fue recolectarla en los tubos capilares microhematocrito heparinizados con sodio 80 iu/ml del MARIENFELD – Laboratory Glassware, donde se llenó 2 capilares heparinizados con muestra de sangre por cada espécimen de *Rattus norvegicus* var. Wistar, estos capilares fueron debidamente rotulados previamente empleando marcadores de diferentes colores para diferenciar el tratamiento y número de rata Wistar, pues cada rata Wistar tenía un número marcado (líneas).

Luego estos capilares con la sangre incorporada, fueron colocados en una tapilla con plastilina, para ser sellados. Se procedió a centrifugar a 4000 revoluciones por 4 minutos para la obtención de plasma, lo mismo se realizó para los demás grupos. Todo se realizó con limpieza y asepsia utilizando alcohol y algodón.

Con las muestras de plasma se procedió a las evaluaciones respectivas, se armó todo un equipo de tubos de ensayo, pipetas de 5ml y gradillas, los tubos de ensayo fueron debidamente rotulados. Se utilizó 4 tubos por rata Wistar (para las 4 determinaciones bioquímicas) un estándar por reactivo y un blanco por cada determinación.

#### **3.7.4. Evaluación del peso corporal.**

Al inicio de la investigación las 20 ratas Wistar adquiridas del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María durante 7 días se les alimento dándole una dieta estándar. Una vez estandarizados se procedió a pesar cada rata Wistar para obtener su peso inicial.

Cada 15 días se pesaba, se realizaron 4 evaluaciones del peso corporal. Con el objetivo de poder determinar el incremento de peso al finalizar la experimentación.

Con los datos de peso inicial y peso final, se calculó la proporción de ganancia de peso.

$$\% \text{ Ganancia de peso corporal} = \left( \frac{\text{peso final} - \text{peso inicial}}{\text{peso inicial}} \right) \times 100$$

### **3.7.5. Determinación de parámetros Bioquímicos.**

#### **3.7.5.1. GLUCOSA (GOD-PAP)- Método de Valtek.**

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de glucosa en suero o plasma y otros fluidos biológicos.

Para el uso en el diagnóstico in vitro.

#### **Fundamentos del método (Método de Valtek).**

La glucosa reacciona con el reactivo enzimático que contiene una mezcla de las enzimas glucosa oxidasa (GOD) y peroxidasa (POD). En la primera etapa la glucosa es oxidada a Ac. gluconico por la acción de la enzima (GOD), liberándose como producto  $\text{H}_2\text{O}_2$ , el cual en una reacción mediada por la enzima POD,

reacciona con el Ac.p-Hidroxibenzoico y 4-aminoantipirina produciéndose un compuesto coloreado con un máximo de adsorción a 505nm, en cantidad proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra.



### **Muestra.**

La muestra a utilizar puede ser tanto suero como plasma, liquido cerebro espinal, orina y otros fluidos biológicos. La muestra debe tomarse con el paciente en ayunas.

La glucosa es estable en suero o plasma 5 horas a 30 °C y 24 horas a 4 °C.

### **Técnica.**

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizara el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

		Blanco	Calibrador	Muestra
Muestra	ml	---	----	0.01
Calibrador	ml	----	0.01	----
Reactivo	ml	1.00	1.00	1.00
Mezclar e incubar 5 min a 37 °C a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C). Leer las absorbancias ajustando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos 30 minutos.				

### **Determinación de los niveles de glucosa en plasma.**

Se obtuvieron muestras de sangre de la vena de la cola, en capilares heparinizados de cada rata Wistar, para la obtención de plasma (muestra).

La glucosa se midió utilizando tubos de 150 ml donde se colocó 1ml de reactivo y 10ul de plasma con la ayuda de la micro pipeta y tips, lo mismo se hizo con todas las demás muestras y al final se homogenizo. Se utilizó un tubo para el reactivo patrón y uno tubo con agua destilada (tubo blanco).

Luego se regulo el espectrofotómetro a 505nm y se colocó el tubo blanco (agua destilada) ajustando a cero, luego se procedió a dar lectura de los tubos que contenían la muestraran incluidas y al final el tubo patrón (calibrador).

### **Cálculos**

$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración calibrador}}{\text{Ads. calibrador}}$
$\text{Glucosa (mg/dl)} = \text{Factor} \times \text{Ads. Muestra}$

### **3.7.5.2. TRIGLICÉRIDOS (GOD-PAP)- Método de Valtek.**

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de Triglicéridos en suero o plasma.

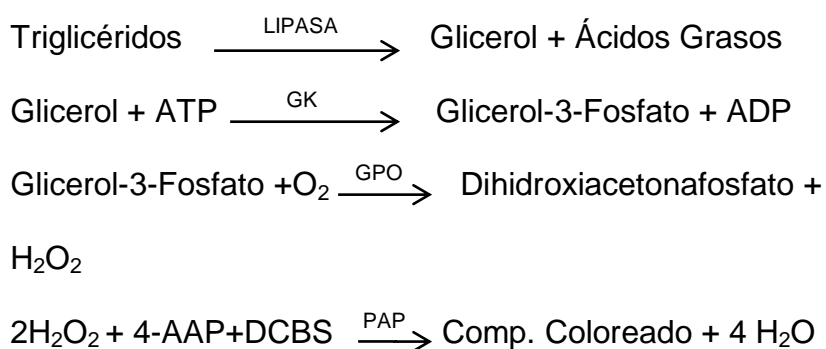
Para el uso en el diagnostico in vitro.

#### **Fundamentos del método (Método de Valtek).**

Los triglicéridos son hidrolizados por una lipasa específica liberando ácidos grasos y glicerol. El glicerol es fosforilado por la enzima gliceroquinasa y posteriormente, el glicerol-1-fosfato es oxidado a

dihidroxiacetona fosfato por la enzima glicerol-fosfato oxidasa, generándose peróxido de hidrogeno.

Posteriormente, en una reacción del tipo trinder, el peróxido de hidrogeno reacciona con 4-aminoantipirina y el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxi-bencensulfonico para producir por medio de la enzima peroxidasa un compuesto coloreado en cantidad proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra, midiéndose la absorbancia a 520nm.



### **Muestra.**

Utilizar de preferencia suero o plasma (heparina o EDTA) libre de hemolisis. Los triglicéridos son estables algunos días entre 2 °C y 8 °C.

### **Técnica.**

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizara el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

		Blanco	Calibrador	Muestra
Muestra	ml	---	----	0.01
Calibrador	ml	----	0.01	----
Reactivo	ml	1.00	1.00	1.00
Mezclar e incubar 5 min a 37 °C a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C). Leer las absorbancias ajustando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos 30 minutos.				

### **Determinación de los niveles de triglicéridos en plasma.**

Se obtuvieron muestras de sangre de la vena de la cola en capilares heparinizados de cada una de las ratas Wistar, para la obtención de plasma (muestra). Se utilizaron tubos de 150 ml donde se colocó 1ml de reactivo y 10 ul de plasma con la ayuda de la micro

pipeta y tips, lo mismo se hizo con todas las demás muestras y al final se homogenizo. Se utilizó un tubo para el reactivo patrón y uno tubo con agua destilada (tubo blanco).

Luego se regulo el espectrofotómetro a 520nm y se colocó el tubo blanco (agua destilada) ajustando a cero, luego se procedió a dar lectura de los tubos que contenían la muestran incluidas y al final el tubo patrón (calibrador).

### **Cálculos**

$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración Calibrador}}{\text{Ads. Calibrador}}$
$\text{Triglicéridos (mg/dl)} = \text{Factor} \times \text{Ads. Muestra}$

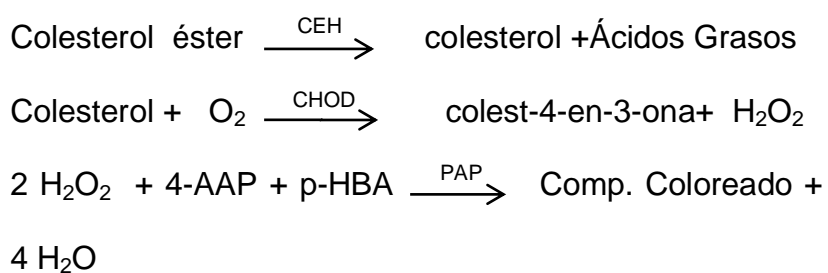
### **3.7.5.3. COLESTEROL (CHOD-PAP) - Método de Valtek.**

Reactivo líquido para la determinación fométrica de Colesterol total en suero o plasma.

Para el uso en el diagnostico in vitro.

### **Fundamentos del método (Método de Valtek).**

El colesterol se determina por acción de las enzimas Colesterol éster hidrolasa y colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol, y la segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrogeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromogenico dando origen a un compuesto coloreado que adsorbe a 505 nm.



### **Muestra.**

Utilizar de preferencia suero o plasma (heparina o EDTA) libre de hemolisis.

El colesterol es estable 7 días a temperatura ambiente y 6 meses en congelador.

### **Técnica.**

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizara el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

		Blanco	Calibrador	Muestra
Muestra	ml	---	----	0.01
Calibrador	ml	----	0.01	----
Reactivo	ml	1.00	1.00	1.00

Mezclar e incubar 5 min a 37 °C o 10 min a temperatura ambiente (>20 °C). Leer las absorbancias llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos 30 minutos.

### **Determinación de los niveles de colesterol en plasma.**

Se obtuvieron muestras de sangre de la vena de la cola en capilares heparinizados de cada una de las ratas Wistar, para la obtención de plasma (muestra). Se utilizaron tubos de 150 ml donde se colocó 1ml de reactivo y 10 ul de plasma con la ayuda de la micro

pipeta y tips, lo mismo se hizo con todas las demás muestras y al final se homogenizo. Se utilizó un tubo para el reactivo patrón y uno tubo con agua destilada (tubo blanco).

Luego se regulo el espectrofotómetro a 505nm y se colocó el tubo blanco (agua destilada) ajustando a cero, luego se procedió a dar lectura de los tubos que contenían la muestran incluidas y al final el tubo patrón (calibrador).

**Cálculos:**

$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración Calibrador}}{\text{Ads. Calibrador}}$
$\text{Colesterol total (mg/dl)} = \text{Factor} \times \text{Ads. Muestra}$

**3.7.5.4. CALCIO (CFC) - Método de Valtek.**

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de calcio en suero, plasma u orina.

Para el uso en el diagnostico in vitro.

### **Fundamentos del método (Método de Valtek).**

Se han utilizado una variedad de métodos calorimétricos para la determinación de calcio. El método Valtek utiliza Cresol ftaleína complexona según Moorehead y Briggs. La CFC reacciona con el calcio y magnesio en medio alcalino fuerte, formándose un complejo coloreado. La interferencia del magnesio es eliminada con la adición de 8-hidroxiquinolina.

La intensidad del color purpura formado, es directamente proporcional a la concentración de calcio presente en la muestra y se mide a 570 nm. (Rango 540 a 600 nm).

### **Muestra.**

Utilizar de preferencia suero o plasma heparinizado.

### Técnica.

Técnica con blanco tubo.

		calibrador	muestra
Reactivo de trabajo	ml	1.00	1.00
Mezclar y leer para cada tubo las absorbancias A1 contra blanco de agua.			
Calibrador	ml	0.01	-----
Muestra	ml	-----	0.01
Mezclar e incubar a lo menos 60 segundos y leer para cada tubo las absorbancias A2 contra blanco de agua. El color resultante es estable por a lo menos 1 hora.			

Técnica sin blanco tubo.

		Blanco	Calibrador	Muestra
Muestra	ml	---	----	0.01
Calibrador	ml	----	0.01	----
Reactivo	ml	1.00	1.00	1.00
Mezclar e incubar a lo menos 60 segundos y leer las absorbancias contra blanco de reactivos. El color resultante es estable por a lo menos 1 hora.				

### **Determinación de los niveles de calcio en plasma.**

Se obtuvieron muestras de sangre de la vena de la cola en capilares heparinizados de cada una de las ratas Wistar, para la obtención de plasma (muestra). Para la prueba se utilizaron tubos de 150 ml donde se colocó 1ml de reactivo y 10ul de plasma con la ayuda de la micro pipeta y tips, lo mismo se hizo con todas las demás muestras y al final se homogenizo. Se utilizó un tubo para el reactivo patrón y uno tubo con agua destilada (tubo blanco).

Luego se regulo el espectrofotómetro a 570 nm y se colocó el tubo blanco (agua destilada) ajustando a cero, luego se procedió a dar lectura de los tubos que contenían la muestran incluidas y al final el tubo patrón (calibrador).

## Cálculos

Técnica con blanco tubo.

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{(\text{Ads.2 Calibrador} - \text{Ads.1 Calibrador})}$
Calcio (mg/dl) = Factor x (Ads.2 Muestra - Ads.1 Muestra).

Técnica con blanco tubo.

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\text{Ads. Calibrador}}$
Calcio (mg/dl) = Factor x Ads. Muestra.

La primera evaluación con la aplicación de tratamientos se realizó a los 15 días en el cual se evaluó de la concentración de glucosa, triglicéridos, colesterol y calcio.

La segunda evaluación se hizo a los 30 días, la tercera y última a los 45 días.

### **3.7.6. Diseño estadístico**

Para el análisis de datos se empleó la prueba estadístico ANOVA, que es utilizada para evaluar las posibles diferencias significativas entre los grupos de tratamientos y la prueba de especificidad de Tukey.

Las diferencias son estadísticamente significativas si  $P < 0.05$  y altamente significativas si  $P < 0.01$ .

#### IV. RESULTADOS

TABLA N° 4

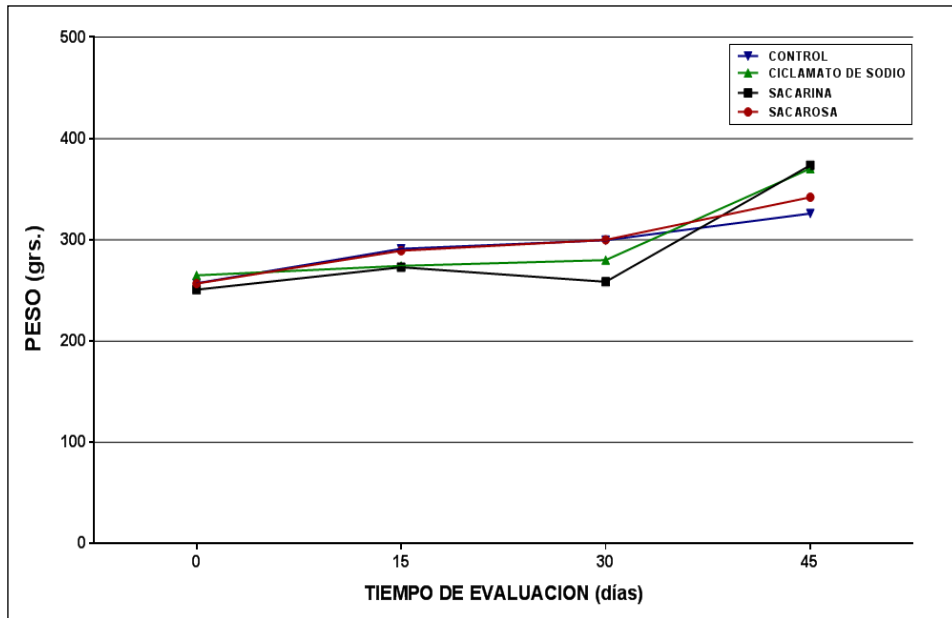
Evaluación y comparación del peso corporal por efecto de tres tipos de edulcorantes en *Rattus norvegicus* var. Wistar.

TRATAMIENTO	PESO CORPORAL (grs.)			
	0 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS
	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$
SACAROSA (AZUCAR)	256.80 ± 15.59 a	289.20 ± 20.03 a	300.00 ± 24.66 a	342.00 ± 32.47 a
SACARINA	250.80 ± 8.32 a	273.00 ± 10.30 a	258.60 ± 48.97 a	373.60 ± 35.76 a
CICLAMATO DE SODIO	265.00 ± 3.61 a	274.40 ± 8.99 a	280.00 ± 9.06 a	370.40 ± 35.48 a
CONTROL	257.20 ± 13.16 a	291.20 ± 16.59 a	299.60 ± 17.40 a	326.00 ± 22.85 a
ANOVA (F)	1.360	2.126	2.279	2.556
SIGNIFICANCIA	N.S. (P>0.05)	N.S. (P>0.05)	N.S. (P>0.05)	N.S. (P>0.05)

Prueba de Tukey: (a, b, c)

Fuente. Elaboración propia.

Se observa en la Tabla N° 4, los valores de peso corporal promedio y sus respectivas desviaciones estándar en *Rattus norvegicus*, a las que se les administró tres tipos de edulcorantes hasta 45 días de evaluación, se detallan también los valores del estadístico de Fisher (F) del "Análisis de Varianza", los que indican que no se presentan diferencias significativas (N.S.) en las cuatro evaluaciones. La prueba de Tukey muestra que todos los tratamientos no presentan diferencias significativas (a).



Fuente. Elaboración propia.

**Gráfico Nº 1. Peso promedio según tiempos de evaluación,** existe aumento progresivo del peso corporal hasta la última evaluación (45 días), siendo ligeramente menor el peso promedio del grupo control a los 45 días de evaluación.

**TABLA Nº 5**

**Evaluación y Comparación de la concentración de glucosa por efecto de tres tipos de edulcorantes en *Rattus norvegicus* var.**

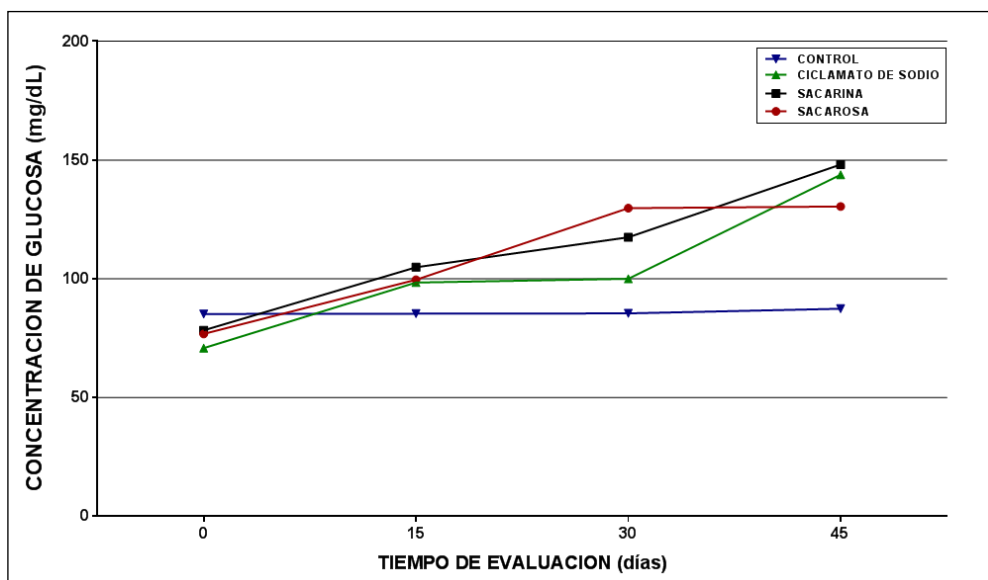
**Wistar.**

TRATAMIENTO	CONCENTRACION DE GLUCOSA (mg/dL)			
	0 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS
	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$
<b>SACAROSA (AZUCAR)</b>	76.85 ± 7.58 ab	99.65 ± 6.62 ab	129.74 ± 3.61 d	130.49 ± 3.83 b
<b>SACARINA</b>	78.31 ± 5.93 ab	104.90 ± 12.97 b	117.49 ± 4.91 c	148.10 ± 3.56 c
<b>CICLAMATO DE SODIO</b>	70.85 ± 4.99 a	98.43 ± 7.57 ab	100.00 ± 6.34 b	143.85 ± 2.38 c
<b>CONTROL</b>	85.19 ± 7.51 b	85.36 ± 7.19 a	85.48 ± 7.09 a	87.40 ± 3.79 a
<b>ANOVA (F)</b>	3.989	4.295	59.226	324.757
<b>SIGNIFICANCIA</b>	S.S. (P<0.05)	S.S. (P<0.05)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)

**Prueba de Tukey: (a, b, c)**

Fuente. Elaboración propia.

Se observa en la Tabla N° 5, las concentraciones de glucosa promedio y sus respectivas desviaciones estándar en *Rattus norvegicus*, a las que se les administró tres tipos de edulcorantes hasta 45 días de evaluación, se detallan también los valores del estadístico de Fisher (F) del "Análisis de Varianza", los mismos que indican que se presentan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) a los 0 y 15 días de evaluación, mientras que a los 30 y 45 días de evaluación se presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones de glucosa. La prueba de Tukey muestra que a los 45 de evaluación el grupo control presentó menos concentración de glucosa (a), seguido del tratamiento con sacarosa (b), las mayores concentraciones de glucosa se presentaron en los tratamientos con sacarina y ciclamato de sodio (c).



Fuente. Elaboración propia.

**Gráfico N° 2. Concentración de glucosa según tiempos de evaluación**, existe aumento de la concentración de glucosa hasta la última evaluación (45 días), siendo mayores las concentraciones de glucosa en los tratamientos en comparación con el control.

**TABLA Nº 6**

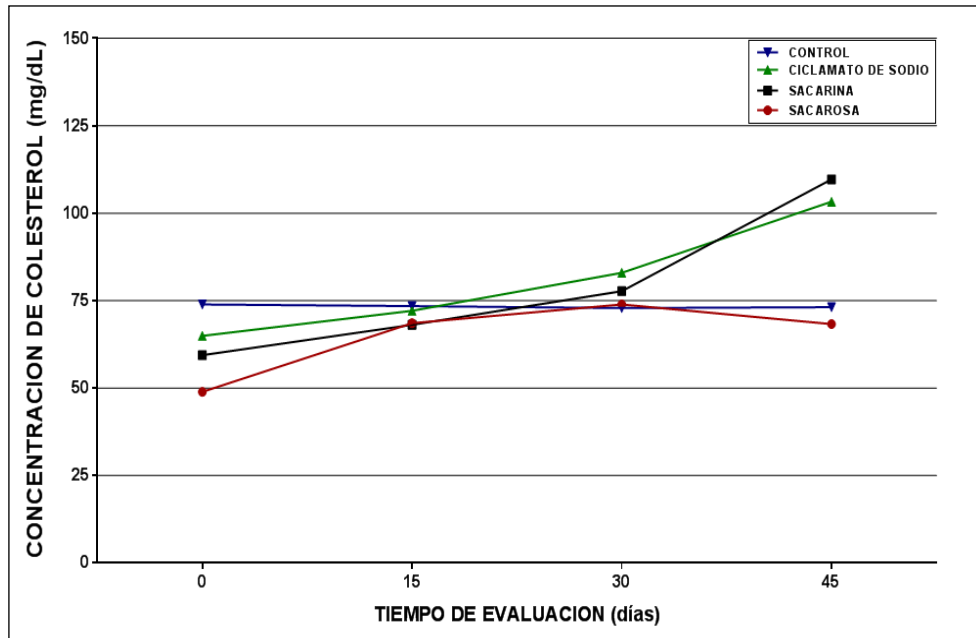
**Evaluación y comparación de la concentración de colesterol por efecto de tres tipos de edulcorantes en *Rattus norvegicus* var. Wistar.**

TRATAMIENTO	CONCENTRACION DE COLESTEROL (mg/dL)			
	0 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS
	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$
<b>SACAROSA (AZUCAR)</b>	48.91 ± 7.48 a	68.57 ± 4.39 a	73.94 ± 2.20 a	68.33 ± 16.64 a
<b>SACARINA</b>	59.43 ± 10.81 ab	68.11 ± 9.24 a	77.72 ± 1.81 a	109.71 ± 3.00 b
<b>CICLAMATO DE SODIO</b>	64.92 ± 11.30 ab	72.11 ± 9.00 a	82.97 ± 1.36 b	103.32 ± 3.93 b
<b>CONTROL</b>	73.94 ± 4.62 b	73.49 ± 4.48 a	72.91 ± 4.69 a	73.14 ± 2.71 a
<b>ANOVA (F)</b>	6.815	0.678	12.984	28.337
<b>SIGNIFICANCIA</b>	A.S. (P<0.01)	N.S. (P>0.05)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)

**Prueba de Tukey: (a, b, c)**

Fuente. Elaboración propia.

Se observa en la Tabla N° 6, las concentraciones de colesterol promedio y sus respectivas desviaciones estándar en *Rattus norvegicus*, a las que se les administró tres tipos de edulcorantes hasta 45 días de evaluación, se detallan también los valores del estadístico de Fisher (F) del "Análisis de Varianza", los mismos que indican la presencia de diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) a los 0 días de evaluación, a los 15 de evaluación no se presentan diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), mientras que a los 30 y 45 días de evaluación se presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones de colesterol. La prueba de Tukey muestra que a los 45 de evaluación el grupo control y el tratamiento con sacarosa (azúcar) presentaron la menor concentración de colesterol total (a), las mayores concentraciones de colesterol se presentaron en los tratamientos con sacarina y ciclamato de sodio (b).



Fuente. Elaboración propia.

**Gráfico Nº 3. Concentración de colesterol según tiempos de evaluación,** existe aumento de la concentración de colesterol hasta la última evaluación (45 días), siendo mayores las concentraciones de colesterol de los tratamientos con ciclamato de sodio y sacarina en comparación al grupo control y al tratamiento con sacarosa.

**TABLA Nº 7**

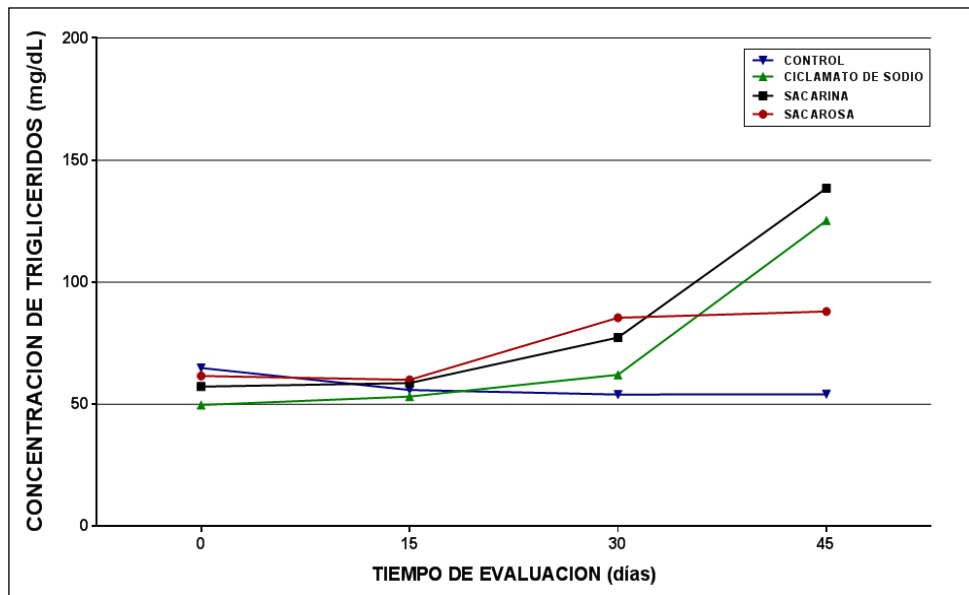
**Evaluación y comparación de la concentración de triglicéridos por efecto de tres tipos de edulcorantes en *Rattus norvegicus* var. Wistar.**

<b>CONCENTRACION DE TRIGLICERIDOS (mg/dL)</b>				
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>0 DIAS</b>	<b>15 DIAS</b>	<b>30 DIAS</b>	<b>45 DIAS</b>
	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$
<b>SACAROSA (AZUCAR)</b>	61.63 ± 9.79 a	60.04 ± 8.74 a	85.46 ± 2.14 d	88.05 ± 1.65 b
<b>SACARINA</b>	57.31 ± 15.54 a	58.75 ± 9.82 a	77.34 ± 5.61 c	138.60 ± 1.93 d
<b>CICLAMATO DE SODIO</b>	49.72 ± 7.82 a	53.21 ± 8.45 a	62.16 ± 2.35 b	125.24 ± 2.75 c
<b>CONTROL</b>	64.89 ± 13.45 a	55.87 ± 2.21 a	54.04 ± 1.87 a	54.19 ± 0.68 a
<b>ANOVA (F)</b>	1.487	0.748	90.093	2009.396
<b>SIGNIFICANCIA</b>	N.S. (P>0.05)	N.S. (P>0.05)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)

**Prueba de Tukey: (a, b, c, d)**

Fuente. Elaboración propia.

Se observa en la Tabla N° 7, las concentraciones de triglicéridos promedio y sus respectivas desviaciones estándar en *Rattus norvegicus*, a las que se les administró tres tipos de edulcorantes hasta 45 días de evaluación, se detallan también los valores del estadístico de Fisher (F) del "Análisis de Varianza", los mismos que indican que a los 0 y 15 de evaluación no se presentan diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), mientras que a los 30 y 45 días de evaluación se presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones de triglicéridos. La prueba de Tukey muestra que a los 45 de evaluación el grupo control presentó la menor concentración de triglicéridos (a), seguido del tratamiento con sacarosa (azúcar) (b), las mayores concentraciones de colesterol se presentaron en los tratamientos con ciclamato de sodio (c) y sacarina (d).



Fuente. Elaboración propia.

**Gráfico Nº 4. Concentración de triglicéridos según tiempos de evaluación,** existe aumento de la concentración de triglicéridos hasta la última evaluación (45 días), siendo mayores las concentraciones de triglicéridos de los tratamientos con ciclamato de sodio y sacarina al tratamiento con sacarosa y todos en comparación al grupo control.

**TABLA Nº 8**

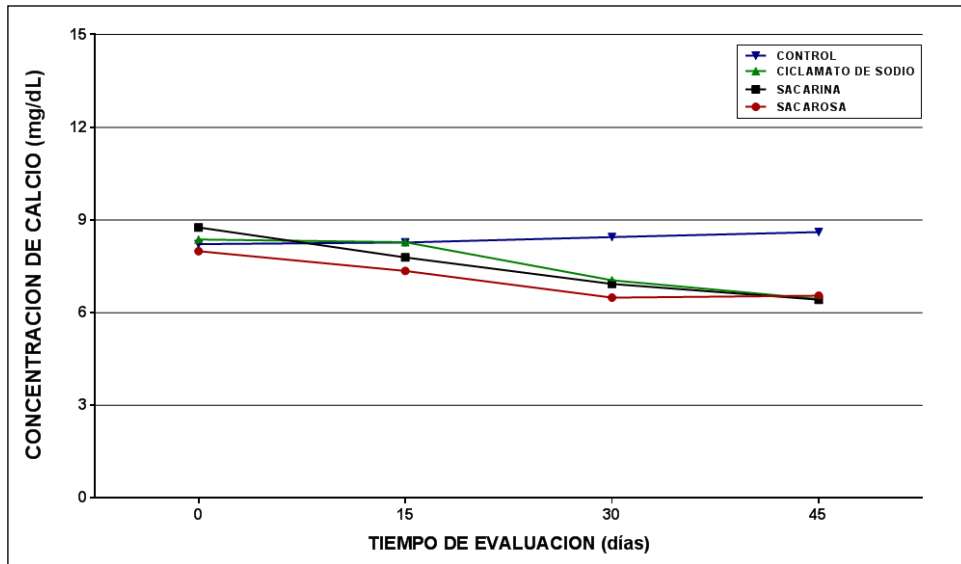
**Evaluación y comparación de la concentración de calcio por efecto de tres tipos de edulcorantes en *Rattus norvegicus* var. Wistar.**

TRATAMIENTO	CONCENTRACION DE CALCIO (mg/dL)			
	0 DIAS	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS
	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$
SACAROSA (AZUCAR)	7.99 ± 0.54 a	7.35 ± 0.66 a	6.49 ± 0.48 a	6.55 ± 0.34 a
SACARINA	8.76 ± 2.09 a	7.79 ± 1.13 a	6.93 ± 0.89 a	6.42 ± 0.45 a
CICLAMATO DE SODIO	8.37 ± 1.57 a	8.28 ± 1.53 a	7.05 ± 0.69 a	6.44 ± 1.17 a
CONTROL	8.22 ± 0.72 a	8.27 ± 0.57 a	8.45 ± 0.43 b	8.61 ± 0.41 b
ANOVA (F)	0.268	0.902	8.498	12.386
SIGNIFICANCIA	N.S. (P>0.05)	N.S. (P>0.05)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)

**Prueba de Tukey: (a, b)**

Fuente. Elaboración propia.

Se observa en la Tabla N° 8, las concentraciones de calcio promedio y sus respectivas desviaciones estándar en *Rattus norvegicus*, a las que se les administró tres tipos de edulcorantes hasta 45 días de evaluación, se detallan también los valores del estadístico de Fisher (F) del "Análisis de Varianza", los mismos que indican que a los 0 y 15 de evaluación no se presentan diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), mientras que a los 30 y 45 días de evaluación se presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones de calcio. La prueba de Tukey muestra que a los 45 de evaluación el grupo control presenta mayor concentración de calcio (b) mientras los tratamientos con sacarosa (azúcar), sacarina y ciclamato de sodio presentaron menores concentraciones de calcio (a).



Fuente. Elaboración propia.

**Gráfico Nº 5. Concentración de calcio según tiempos de evaluación,** existe disminución de la concentración de calcio hasta la última evaluación (45 días), siendo mayores las concentraciones de calcio de los tratamientos en comparación al del grupo control.

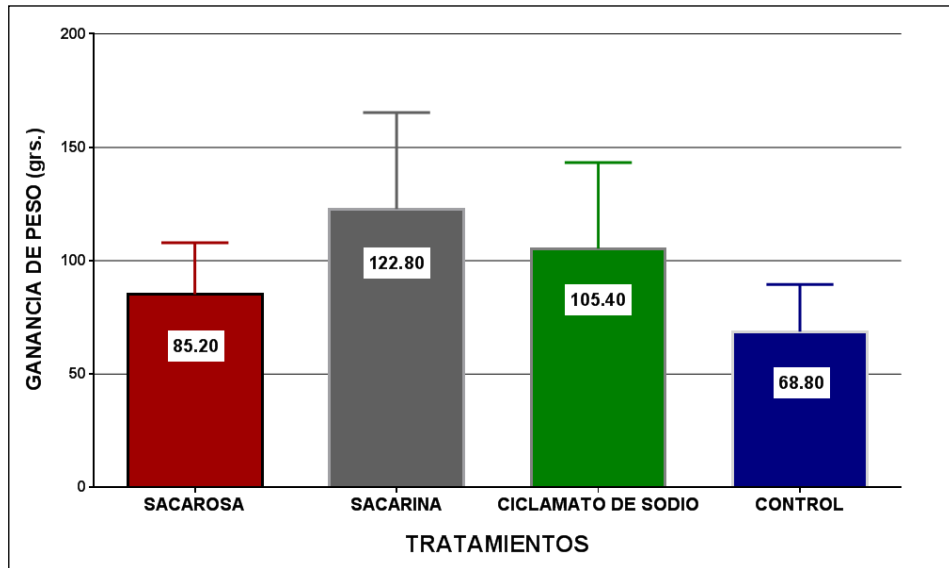
**TABLA N° 9**

**Evaluación y comparación de la ganancia de peso por efecto de tres tipos de edulcorantes en *Rattus norvegicus* var. Wistar.**

<i>MUESTRA</i>	<i>GANANCIA DE PESO (grs.)</i>	<i>Significancia</i>	
	$\bar{X} \pm S$	<i>F</i>	<i>P</i>
<b>SACAROSA (AZUCAR)</b>	85.20 ± 22.74 a	<b>2.64</b>	<b>0.085</b>
<b>SACARINA</b>	122.80 ± 42.49 a		<b>N.S.</b>
<b>CICLAMATO DE SODIO</b>	105.40 ± 37.96 a		<b>P&gt;0.05</b>
<b>CONTROL</b>	68.80 ± 20.72 a		

Fuente. Elaboración propia.

Se observa en la Tabla N° 9, los promedios de la ganancia de peso y sus respectivas desviaciones estándar en *Rattus norvegicus*, a las que se les administró tres tipos de edulcorantes hasta 45 días de evaluación, se detalla también el valor de la prueba estadística de comparación empleada “Análisis de Varianza”, siendo para dicha prueba el valor del estadístico de  $F = 2.64$ , el cual demuestra que no existe diferencias significativas (N.S.) en la ganancia de peso en *Rattus norvegicus*, con la aplicación de tres tipos de edulcorantes.



Fuente. Elaboración propia.

**Gráfico Nº 6. Ganancia de peso según tratamientos a los 45 días de evaluación,** se muestra que el grupo con de sacarina presenta mayor ganancia de peso seguida del tratamiento con ciclamato de sodio y el tratamiento con sacarosa y finalmente el grupo control.

## V. DISCUSIÓN

Los resultados mostraron a los 45 días, que las ratas que recibieron el T1 con sacarosa, los niveles de glucosa aumentaron de  $76.85 \pm 7.58$  mg/dl a  $130.49 \pm 3.83$  mg/dl, Con respecto al T2 con sacarina se puede decir que la concentración de glucosa aumenta de  $78.31 \pm 5.93$  mg/dl a  $148.10 \pm 3.56$  mg/dl, en el T3: ciclamato de sodio los niveles de glucosa aumentaron de  $70.85 \pm 4.99$  mg/dl a  $143.85 \pm 2.38$  mg/dl, solo el T4 control no sufrió variaciones significativas de  $85.19 \pm 7.51$  mg/dl a  $87.40 \pm 3.79$  mg/dl.

Los resultados obtenidos mostraron un aumento altamente significativo en los valores de glucosa a los 30 y 45 días en los tratamientos ( T1, T2, T3) y la prueba de Tukey muestra que existe una mayor concentración de glucosa con el tratamiento T2 que corresponde a sacarina en comparación con el tratamiento cuatro (T4) control que solo se le administro agua, el cual no ha sufrido una variación considerable estos resultados se puede relacionar pues numerosos estudios han demostrado consistentemente que los edulcorantes de bajas calorías como el aspartame, sacarina y acesulfame de potasio aumentan los

niveles de apetito en humanos y luego del consumo de sacarina hay un incremento en la ingesta de alimentos provocando que la persona consuma más calorías produciéndose la sobre ingesta de alimentos, también se puede decir que algunos edulcorantes artificiales inducen la secreción de insulina y un aumento en el apetito (Sardesai & Waldsshan. 1991).

El sabor dulce, sea calórico o no, aumenta la sensación de hambre y estimula el apetito. Un endulzamiento más potente, como el que producen los edulcorantes, genera mayor adicción. (Black. 1993) demostró que el agua endulzada con aspartamo incrementa el apetito en adultos normopeso, y por otro lado, también se ha demostrado que aumenta el apetito en mayor medida que la glucosa (Blundell. 1986). El deseo de comer es inducido mediante mecanismos de recompensa neurofisiológica, similar a los del sexo o las drogas (Small 2002, Avena 2008). De hecho, la recompensa neurológica ante el sabor dulce es incluso más potente que la cocaína en estudios realizados en ratas (Lenoir, 2007).

Se investigó el efecto del aspartamo en los niveles sanguíneos de glucosa en diabéticos tipo II. El desayuno endulzado con aspartamo indujo una subida en los niveles de azúcar e insulina similares a los de la comida endulzada con azúcar (Ferland, Brassard et al., 2007).

Corkey y colegas, encontraron en ratas que el consumo de sucralosa, aspartamo y sacarina aumentan la secreción de insulina. Lo mismo se ha encontrado con Acesulfame K (Liang. 1987) y con sacarina (Bandyopadhyay. 2008). En la Convención anual de la Asociación Americana de Diabetes, se presentó recientemente un estudio en el que se muestra que casi el 70% de los ratones que consumieron aspartamo en su dieta desarrollaron hiperglicemia en pocas semanas, más del doble que los ratones que consumieron comida sin aspartamo. Y epidemiológicamente, Nettleton 2009, encontró que la gente que consume un refresco light diario tiene un riesgo de 67 % mayor de padecer diabetes.

La vía gustativa es percibida por los receptores gustativos en la lengua y asciende hacia el tálamo, puerta integradora sensitiva hacia el cerebro, y finalmente es analizada en el cortex orbitofrontal y el sistema límbico, modulador hedónico y centro del placer. Tanto el azúcar como los edulcorantes activan el sistema de recompensa que pone en marcha el sabor dulce, pero en el caso de los edulcorantes, no se activa consecuentemente el sistema de saciedad (disminución de la actividad hipotalámica), que permanece activa dirigiendo la actividad conductual hacia la obtención de comida (Smeets, 2005). Se ha visto además que las personas obesas tienen una disrupción neuroendocrina, con una sobre activación en las áreas mesolímbicas, cortex gustatorio y regiones somatosensoriales que codifican el valor hedónico de la comida, tanto anticipatorio como consumatorio (Stice 2008). Es interesante reseñar que la exposición repetida a un tipo de sabor, predispone a su posterior preferencia (Liem, 2004), por lo que el incremento del consumo de dulces aumenta la preferencia por el dulce y su consumo, especialmente debido a su alto valor hedónico.

Los resultados mostraron que las ratas que recibieron T1 con sacarosa los niveles de colesterol aumentaron desde  $48.91 \pm 7.48$  mg/dl a  $68.33 \pm 16.64$  mg/dl, el T2 con sacarina tuvo un incremento de  $59.43 \pm 10.81$  mg/dl a  $109.71 \pm 3.00$  mg/dl, en el T3 con ciclamato de sodio se observa un aumento de  $64.92 \pm 11.30$  mg/dl a  $103.32 \pm 3.93$  mg/dl, solamente el T4 grupo control no se observó variaciones significativas.

Los resultados obtenidos mostraron un aumento altamente significativo en los valores de colesterol y triglicéridos a los 30 y 45 días en los tratamientos (T2, T3) y la prueba de Tukey muestra que existe una mayor concentración de colesterol y triglicéridos en el tratamiento T2 que corresponde a sacarina, se puede concluir que el empleo de edulcorantes artificiales induce al incremento de colesterol y triglicéridos.

En enero del 2013 fue publicado en la revista *Appetite*, un estudio realizado por un equipo de investigación brasileño de la Facultad de Medicina de la Universidad Federal de Rio Grande do Sul. Se realizó un experimento con ratas, a unas se les alimentó con un yogur que contenía un edulcorante artificial sacarina, y a otras con un yogur con glucosa, un azúcar natural,

durante 12 semanas. Se comprobó que las ratas que habían sido alimentadas con sacarina engordaban más que las que tomaban glucosa. Las ratas que tomaban sacarina, siguieron comiendo más alimentos aumentando así su peso y su grasa corporal, sin embargo las que tomaron el azúcar natural limitaban su ingesta. Esto se produce porque cuando se toma un alimento dulce, el organismo se prepara para recibir muchas calorías, pero cuando es un edulcorante artificial no, se libera insulina, se reduce el azúcar en sangre, el organismo se confunde se genera más apetito.

Los resultados mostraron respecto a la concentración de calcio en el T1 con sacarosa, una disminución de  $7.99 \pm 0.54$  mg/dl a  $6.55 \pm 0.34$  mg/dl, las ratas que recibieron el T2 con sacarina disminuyen de  $8.76 \pm 2.09$  mg/dl a  $6.42 \pm 0.45$  mg/dl, en el T3 con ciclamato de sodio hay una disminución de  $8.37 \pm 1.57$  mg/dl a  $6.44 \pm 1.17$  mg/dl muy diferente al T4 grupo control en el cual los niveles de calcio no sufrieron variaciones significativas desde  $8.22 \pm 0.72$  mg/dl a  $8.61 \pm 0.41$  mg/dl.

Los resultados obtenidos en los 4 tratamientos respecto a la concentración de calcio se observa que desciende en el T1, T2 y T3, mientras que el T4 control no ha sufrido variaciones, pues el consumo de azúcares produce una disminución del calcio ya que induce a su eliminación por la orina.

El estudio Framingham Osteoporosis Study encontró una pobre mineralización ósea entre los consumidores de refrescos light y azucarados en mujeres (Tucker 2006). Lussi 2008 encuentra mayor erosión dental entre los consumidores de estos refrescos. Nettleton 2009, en el Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis encontró que la gente que consume al menos un refresco light al día presenta un riesgo un 67 % mayor de padecer diabetes, ajustado demográficamente y ponderada la ingesta calórica diaria. Encontró también mayor perímetro abdominal y mayores niveles de glucosa en sangre.

Con respecto al peso corporal se puede observar que en los 4 tratamientos hay un incremento de peso pero entre cada tratamiento no existe diferencias significativas.

Los datos indican claramente que el consumo de un alimento endulzado con sacarina, sin calorías, puede llevar a una mayor ganancia de peso corporal y adiposidad que las que se producirían al consumir la misma comida endulzada con azúcar, con una cantidad superior en calorías, explican los investigadores. Los autores reconocen que este resultado puede parecer contrario a lo que nos sugeriría el sentido común, pues los datos provienen de ratas, no de seres humanos. Sin embargo, señalan que sus conclusiones coinciden con las evidencias cada vez mayores de que las personas que beben más bebidas dietéticas presentan un mayor riesgo de obesidad y síndrome metabólico, un conjunto de problemas médicos que incluye grasa abdominal, tensión arterial alta y resistencia a la insulina, y que hace al individuo propenso a desarrollar enfermedades del corazón y diabetes.

Los datos indican claramente que el consumo de un alimento endulzado con sacarina, sin calorías, puede llevar a una mayor ganancia de peso corporal y adiposidad que las que se producirían al consumir la misma comida endulzada con azúcar, con una cantidad superior en calorías. El estudio realizado por el

centro de ciencias de la salud de la Universidad de Texas en San Antonio mostro que, más que favorecer la pérdida de peso, las bebidas dietéticas contribuyeron para el incremento en la ganancia del peso y la obesidad (CCSUT, 2011).

Consumir más de un bote de refresco light a la semana se asocia con mayor riesgo de mortalidad, asociación que no encontraron con los refrescos azucarados, ajustados factores de confusión como diabetes e IMC entre otros (Paganini-Hill 2007). Los refrescos light se asocian además con mayor incidencia de hipertensión (Winkelmayer. 2005) y diabetes (Schulze. 2004). Las enfermeras del estudio Nurses Health Study que consumían más de 2 refrescos light al día presentaban una incidencia doble de fallo renal (Lin. 2011). Conclusiones preliminares de la Conferencia de American Stroke Association 2011 todavía no publicadas, han encontrado mayor riesgo de infarto entre los consumidores de edulcorantes que entre los consumidores de refrescos con azúcar.

Además los estudios intervencionales van por la misma línea: los edulcorantes no ayudan a perder peso (Mattes 2009), y el índice de masa corporal no decrece al sustituir durante 25 semanas bebidas azucaradas por bebidas edulcoradas en adolescentes con sobrepeso, excepto en aquellos más obesos (Ebbeling, 2006). Otro estudio controlado interesante, esta vez en ratas, fue el de Sweathers en Purdue. Administraron a un grupo de ratas yogurt con sacarina o yogurt con glucosa, en dos fases de forma cruzada. Las ratas que menos engordaron de todas las combinaciones resultantes fueron las que ingirieron yogurt con glucosa en la fase I y yogurt con glucosa en la fase II.

## VI. CONCLUSIONES

- Se comprobó que el empleo de edulcorantes al igual que el azúcar común provoca un aumento de la concentración de glucosa en la sangre ya que estimula el apetito y como consecuencia produce aumento en la ingesta de alimentos.
- Se determinó la concentración de glucosa en los cuatro tratamientos, en el cual se comprobó que existe una mayor concentración de glucosa en el tratamiento 2 con sacarina en comparación con el control, pues a los 30 y 45 días es altamente significativo ( $p < 0,01$ ).
- Se determinó la concentración de colesterol en los cuatro tratamientos, en el cual se comprobó que existe una mayor concentración de colesterol en el tratamiento 2 con sacarina en comparación con el control pues a los 45 días aumenta significativamente ( $p < 0,01$ ).

- Se determinó la concentración de triglicéridos en los cuatro tratamientos, en el cual se comprobó que existe una mayor concentración de triglicéridos en el tratamiento 2 con sacarina en comparación con el control, observándose que a los 45 días aumenta significativamente ( $p < 0,01$ ).
  
- Se determinó la concentración de calcio en los cuatro tratamientos, en el cual se comprobó que existe una mayor concentración de calcio en el tratamiento 4 control en comparación con los otros tratamientos.
  
- En cuanto al peso se evidencia aumento del peso corporal en los 4 tratamientos.

## VII. RECOMENDACIONES

Con motivo de aclarar las dudas que deja el presente trabajo, se recomienda que a futuro se tome en consideración lo siguiente:

- Establecer el mismo diseño experimental y extender el ensayo por un periodo más prolongado con el objetivo de dar tiempo a que los daños sean más visibles, logrando establecer nuevos parámetros en los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y calcio.
- Establecer el mismo diseño experimental pero utilizando una mayor cantidad de especímenes, para poder aplicar a diferentes concentraciones los edulcorantes ya mencionados.
- Evaluar además de colesterol, los valores plasmáticos de HDL y LDL tras la ingesta de sacarina, ciclamato de sodio y sacarosa “azúcar rubia”.
- Realizar evaluaciones con otros edulcorantes como aspartame, Acesulfame de potasio y comparándolo con stevia edulcorante natural.
- Evaluar los daños morfológicamente causados por la ingesta de edulcorantes realizando comparaciones entre el grupo control y el grupo de tratamientos.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

**Alonso, Jorge Rubén.** (2010). Edulcorantes Naturales. Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador. La Granja. Vol. 12(2). PP. 3-12.

**Arias P. Salvador.** (1992). Campos y perspectivas de la Biotecnología: una estrategia para su introducción en el istmo centroamericano. PP. 86-88.

**Astiasaran A. Iciar, Lasheras A. Berta, Ariño P. Arturo, Martínez H. J. Alfredo.** (2003). Alimentos y Nutrición en la Práctica Sanitaria. ed. Díaz de Santos, S.A, PP. 129-132.

**Bastardo de C. Gladys, Ramírez de Fernández María, García de Méndez María Guadalupe, Martens C. Jorge.** Efecto de la fibra dietética no soluble sobre lípidos séricos en ratas. Medula, Revista de la Facultad de Medicina. Universidad de los Andes, Escuela de Nutrición y Dietética, Vol.2. No 3-4. Mérida Venezuela.

**Benjumea R. María Victoria, Correa G. Ismenia.** (2010). Edulcorantes. Departamento de Salud Pública y Departamento Materno Infantil .Universidad de Caldas. PP. 1-2.

**Bruder N. Thiago, Ferreira B. Rafaela de Fátima, Pereira Priscila Cristina, Salome C. Dijon Enrique, Soares L. André, Lima L. Ana Paula, A Silvio. Olivera Junior, Padovan Carlos Roberto, Cicogna Antonio Carlos, Cordellini Sandra.** Alteraciones vasculares en ratones obesos por dieta rica en grasa: papel de la vía l-arginina/no endotelial. Departamento de Farmacología, Instituto de Biociencias-UNESP; Departamento de Medicina Clínica. Universidad Estadual Paulista, Sao Paulo-Brasil. PP. 41-42.

**Camean F. Ana María, Repetto J. Manuel.** (2006). Toxicología Alimentaria. Edición Díaz de Santos S.A. P. 480

**Del Toro Equihua Mario.** (2001). Efecto de la Cocarboxilasa sobre la Glucemia en ratas Inducidas a Diabetes. Universidad de Colima. Facultad de Medicina. Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas. Colima. Colombia. PP. 9 -14, 16, 45, 48 - 50.

**Duran A. Samuel, Quijada M. María, Silva V. Loreto, Almonacid M.**

**Nazarena, Berlanga Z. María, Rodríguez N. María.**

(2011). Niveles de ingesta diaria de edulcorantes no nutritivos en escolares de la región de Valparaíso. Universidad Autónoma de Chile, Universidad Santo Tomás, sede Viña del Mar, Chile. Rev. Chilena Nutrición, Vol. 38, N° 4. PP. 444 - 448.

**Echavarría Almeida Susana, Velasco G. Oscar H.** (2012). Manuscrito

3 Edulcorantes utilizados en alimentos. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. U. Durango. Sigma 119.

**Elkayan Amitai, Mirelman David, Peleg Edna, Wilchek Meir, Miran**

**Thalía, Rabinkov Aarón, Sadetzki Sigal, Rosenthal**

**Talma.** (2001). Efectos de Alicina y Enalapril en ratas con hipertensión, hiperinsulinemia inducidas por fructuosa. AJH (Ed. Español). PP. 411- 412.

**Esquivel C. Anal Aura, Fresan Orozco María Cristina, Mosqueda**

**Cabrera Miguel, Pérez Ramos Julia.** (2012).

Evaluación del efecto de niacina en un modelo de obesidad con síndrome metabólico en ratas Zucker-Zucker (falfa) longevo. Laboratorio de Biología Experimental. Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. México, DF. PP. 49-50.

**Esquivel S. Viviana, Gómez S. Georgina.** (2007). Implicaciones

metabólicas del consumo excesivo de fructosa. Escuela de Nutrición, Departamento de Bioquímica, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica. Acta Medica Costarricense, ISSN 0001-6002, Vol. 49 (4). PP. 198-202.

**Flores I. Isabel Monserrat.** (2005). Regulación circadiana de la

cyp7a1 y cyp 27 en hígado de rata: efecto de la soya. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias de la Salud. Pachuca, Hidalgo. PP. 12-15.

**García P. Lucia Gabriela.** (2006). Evaluación de Jarabe de Maguey mezcalero (Agave salmiana) en ratas diabéticas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. PP. 14-15, 27-28.

**García G. Mariano, Quintero R. Rodolfo, López Agustín, Munguía Canales.** (2004). Biotecnología Alimentaria. Editorial Limusa S. A. PP. 519-549.

**Giannuzzi Leda, Molina O. Sara.** (1995). Edulcorantes Naturales y Sintéticos: Aplicaciones y Aspectos Toxicológicos. Centro de Investigaciones y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata. La Plata, Argentina. PP. 120-125.

**Garriz Andoni, Chamizo J. A.** (1998). Química, Publicado Addison Wesley Iberoamericana, S.A. ISBN 968 444318 8. PP. 78.

**Gonzales Ch. Antonio.** (2013). Posición de Consenso sobre las Bebidas con Edulcorantes no Calóricos y su relación con la Salud. Revista Mexicana Cardiología. Vol. 24, N° 2. PP. 55-68.

**Hernández G. Gilda, Camacho R. Rosalía, Castro R. Javier, Gómez A. Carlos Alberto.** Evaluación del Efecto Antihiper glucémico del Bagazo de Naranja (*Citrus sinensis* var. valencia) en estudios in vitro. Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Unidad de posgrado de Ciencias y Tecnología (PROPAC), Universidad Autónoma de Querétaro. PP. 731-733.

**Hernández Ángel Gil.** (2010). Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición. Tomo 1, Vol. 1, 2a ed. PP. 279-283.

**Hernández Rodríguez M, Sastre Gallego A.** (1999). Tratado de Nutrición. Edición Díaz de santos, S.A. PP. 217-219.

**Herrera Adela Isabel.** (2011). Los edulcorantes y su uso en niños. Grupo de Investigación GASTROHNUP. Universidad del Valle, Cali, Colombia. Revista Gastrohnup, Vol. 13, N° 2. PP. 110-112.

**Herrera Emilio.** (1977). Interrelaciones Hidratos de carbono y grasas en Diabetes experimental y efecto de agentes hipoglucemiantes. Biblioteca digital de CEU-Universidad San Pablo. Publicado Análisis de Medicina. vol. LXIII. N° 9. PP. 1474-1486.

**Ibarra B. Carolina.** (2011). Estudio de factibilidad para la implementación del cultivo de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en Pedro Vicente Maldonado, Pichincha. Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Agricultura, Alimentación y Nutrición. PP. 1-2.

**J. Rosa Francisco, Romero V. Eduardo, Vásquez José, Antequera Rafael, Strauss Miriam.** Respuestas cardiovasculares al NaCl hipertónico inyectado en la región anteroventral del tercer ventrículo de ratas con

hipertensión e insulinoresistencia inducidas por fructosa. Laboratorio de Estudios Cardiovasculares. Escuela de Medicina J. M. de Vargas. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. San José. Caracas. Venezuela.

**Jover B. Alejandro, García B. José.** (2004). Manual del Auxiliar de Farmacia. Temario General. Módulo II. Editorial Mad, S.L. P. 135.

**Olazo M. Areli.** (2010). Efecto de la obesidad y la inducción de Diabetes sobre los valores de glucosa, colesterol y triglicéridos en modelo de rata. Universidad de Veracruz Facultad de Ciencias Químicas. PP. 42-43-44 y 51.

**Landete C. Tomas, del Cerro Barja Antonio.** 1998. La Rata de Alcantarilla (*Rattus norvegicus*): Ecología Comportamiento y Control. Ediciones de la Universidad de Castilla – la Mancha Cuenca. PP. 15-19.

**Liscano C. Ahieska Aimara.** (2008). Efecto del Extracto Acuoso de *Phyllanthus niruri* (EUPHORBIACEAE) sobre la retina de ratas diabéticas. Cumana. PP. 16-17.

**Masana Marín Luis.** (2009). Colesterol. Editorial Amat, S. L. Barcelona. PP. 11-15.

**McGilvery Robert W.** (1977). Conceptos bioquímicos. Ed. Reverte, S.A. P. 243.

**Martínez M. Alma Gabriela, López E. Antonio, Díaz R. Felipe de Jesús, Valdés M. Elia.** (2009). Consumo de soluciones endulzadas: sabor vs calorías. Centro de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición–Centro Universitario del Sur –Universidad de Guadalajara (México). Vol. 21, No 2. PP. 191-194.

**Meléndez M. Guillermo.** (2008). Factores asociados con sobrepeso y obesidad en el ambiente escolar. Editorial Médica Panamericana. PP. 76-80.

**Murillo Elizabeth, Tique Margarita María, Ospina Luis Fernando,**

**Lombo Óscar.** (2006). Evaluación preliminar de la actividad hipoglicemiante en ratones diabéticos por aloxano y capacidad antioxidante in vitro de extractos de Bauhinia Kalbreyeri Harms. Departamento de Química, Biología de la Universidad de Tolima y departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia. Rev. Col. Ciencia Química. Farm. vol.35 (1). PP. 67- 68.

**Navarro A. Miguel.** (2012). Aspectos Bromatológicos y Toxicológicos de los edulcorantes. Ediciones Días de Santos. PP. 475-478.

**Olazo M. Areli.** (2010). Efecto de la obesidad y la inducción de Diabetes sobre los valores de glucosa, colesterol y triglicéridos en modelo de rata. Universidad de Veracruz Facultad de Ciencias Químicas. PP. 42-43-44 y 51.

**Olvera Hernández V, Aparicio Trápala M, Muñoz Cano J.** (2012). Efecto del almidón resistente de banano (musa Cavendish AAA) sobre el control metabólico en ratas

Wistar con dieta alta en sacarosa Laboratorio de Bromatología. División Académica de Ciencias de la Salud. UJAT. PP. 53-54.

**Ortega Sánchez-Pinilla Ricardo.** (1992). Medicina del ejercicio físico y del deporte para la atención a la salud, ed. Díaz de Santos. SA. PP. 336-339.

**Pérez .T, Acosta. N, Gamboa A, Mantilla. J, Montoya. M, Vásquez. J, Correa. D.** Revisión Sistemática de literatura de Ciclamatos. Instituto Nacional de Salud, Subdirección de Investigación, Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de Alimentos UERIA, Bogotá D.C, Colombia.

**Poveda Elpidia, Trujillo Pilar, Ruiz francisco, López Elizabeth.** (2008). Glicemia y concentraciones de insulina en la sangre de ratas Wistar sometidas a dieta alta en grasa y a tratamiento con péptidos miméticos de leptina, Biomédica, vol.28, num.1. Instituto Nacional de Salud Colombia. PP. 8, 10-11.

**Raspini Mariana, Dirr Andrea, Rinaldi Mariana, Verónica Jesús.**

(2010). Fisiopatología y Dietoterapia del niño. PP. 177-179.

**Rodríguez R. Víctor Manuel.** (2008). Bases de la Alimentación

Humana. Editorial Gesbiblo, S. L. PP. 131-153.

**Singh M, Balamurugan M, Gupta A, Yadav S, Sharma A, Acharya A**

**y Ramasamy M.** (2007). Efectos antidiabéticos de liposomas cargados con glibenclamida en ratas con diabetes inducida por alloxan. Escuela Superior de Ciencias Farmacéuticas Mahatma Gandhi, Área Industrial RIICO, Sitapura, Tonk Road, Jaipur-303905. India. PP. 33-34.

**Stegink Lewis D, Filer L. J.** (1984). Aspartame, By Marcel Dekker, INC.

ALL Rights Reserve. PP. 11-13.

**Terranova Wilmer Soler, Rodríguez Dora Cecilia, Angarita Vega**

**Benjamín, Corredor Pereira Carlos.** (1986). Efecto de la dieta sobre lípidos de la sangre y el hígado en

ratas. Universidad del norte. Barranquilla. Colombia. PP. 19-29.

**Torres G. Cynthia, López E. Antonio, Martínez Alma Gabriela, Franco Karina, Díaz Felipe, Sosa Georgina, Aguilera Virginia, Magaña Claudia, Cárdenas Azucena.** (2009). Consumo de Alimento y Endulzantes bajo Condiciones de Estrés Crónico en Ratas. Universidad de Guadalajara CUSUR. Centro de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición. Revista Mexicana de Análisis de la Conducta. PP. 133-147.

**Torresani María Elena, Cardone C, Palermo, Rodriguez V, Viegner C, Garavano C, Di Sanzo, Llaría C.** (2001). Manejo y consumo de productos dietéticos y edulcorantes no nutritivos. Escuela de nutrición. UBA. Argentina. Rev. Española Nutrición Comunitaria. PP. 62-65.

**Urzúa G. Zoraida.** (2011). Efectos crónicos de la cafeína sobre el nivel y tolerancia a la glucosa en ratas sanas y con diabetes mellitus experimental. Universidad de Colina. Facultad de Medicina. Centro Universitario de Investigaciones. PP. 22, 30-31.

**Voet Donald, Voet Judith G, Pratt Charlotte W.** (2008). Fundamentos de Bioquímica. Editorial Médica Panamericana S.A. P. 216.

**Yeager Selene.** (2001). La Guía Médica de Remedios Alimenticios. Editorial Rodale Inc. PP. 292 - 294.

## IX. ANEXO

### Anexo N° 1. Determinaciones bioquímicas 1<sup>ra</sup> evaluación.

DETERMINACIONES BIOQUIMICAS					
TRATAMIENTO	ESPECIMEN	EVALUACIONES INICIALES 26/01/14			
		GLUCOSA (mg/dl)	COLESTEROL (mg/dl)	TRIGLICERIDOS (mg/dl)	CALCIO (mg/dl)
T1	Rata I	85,71	57,14	46,30	7,30
T1	Rata II	69,39	54,86	70,97	8,60
T1	Rata III	71,43	49,71	58,44	8,42
T1	Rata IV	73,47	43,43	64,14	8,04
T1	Rata V	84,26	39,43	68,31	7,61
T2	Rata I	70,26	73,71	77,04	8,46
T2	Rata II	83,38	65,71	34,16	12,38
T2	Rata III	83,67	56,00	63,38	8,11
T2	Rata IV	80,17	56,57	56,55	7,08
T2	Rata V	74,05	45,14	55,41	7,75
T3	Rata I	64,72	74,86	40,99	10,76
T3	Rata II	74,34	74,86	41,75	6,40
T3	Rata III	70,85	69,14	54,27	8,62
T3	Rata IV	67,35	51,43	53,51	7,93
T3	Rata V	76,97	54,29	58,06	8,12
T4	Rata I	87,17	79,43	88,80	8,60
T4	Rata II	93,00	73,14	60,72	8,26
T4	Rata III	90,09	66,86	59,20	7,38
T4	Rata IV	81,63	76,00	56,55	9,18
T4	Rata V	74,05	74,29	59,20	7,69

Fuente. Elaboración propia.

**Anexo N° 2. Determinaciones bioquímicas 2<sup>da</sup> evaluación.**

<b>DETERMINACIONES BIOQUIMICAS</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>ESPECIMEN</b>	<b>EVALUACIONES 08/02/14</b>			
		<b>GLUCOSA (mg/dl)</b>	<b>COLESTEROL (mg/dl)</b>	<b>TRIGLICERIDOS (mg/dl)</b>	<b>CALCIO (mg/dl)</b>
T1	Rata I	95,63	68,00	47,44	7,27
T1	Rata II	109,62	69,14	56,17	8,07
T1	Rata III	93,88	66,86	61,10	7,50
T1	Rata IV	95,92	63,43	65,28	6,29
T1	Rata V	103,21	75,43	70,21	7,62
T2	Rata I	113,41	77,14	68,31	8,39
T2	Rata II	116,33	72,57	42,88	9,43
T2	Rata III	112,24	64,57	65,28	6,63
T2	Rata IV	95,92	72,57	58,82	7,02
T2	Rata V	86,59	53,71	58,44	7,47
T3	Rata I	93,59	79,43	43,64	9,36
T3	Rata II	90,96	78,86	45,16	6,38
T3	Rata III	95,04	73,14	62,62	10,22
T3	Rata IV	103,50	72,00	55,41	7,36
T3	Rata V	109,04	57,14	59,20	8,09
T4	Rata I	87,76	77,14	56,93	8,37
T4	Rata II	93,29	74,86	52,37	8,28
T4	Rata III	87,17	65,71	55,03	7,75
T4	Rata IV	84,84	74,29	57,31	9,16
T4	Rata V	73,76	75,43	57,69	7,78

Fuente. Elaboración propia.

**Anexo N° 3.** Determinaciones bioquímicas 3<sup>ra</sup> evaluación.

DETERMINACIONES BIOQUIMICAS					
TRATAMIENTO	ESPECIMEN	EVALUACIONES 22/02/14			
		GLUCOSA (mg/dl)	COLESTEROL (mg/dl)	TRIGLICERIDOS (mg/dl)	CALCIO (mg/dl)
T1	Rata I	128,57	74,86	88,80	7,00
T1	Rata II	135,86	73,71	83,11	6,68
T1	Rata III	126,53	72,57	85,39	6,30
T1	Rata IV	127,99	71,43	84,25	5,76
T1	Rata V	129,74	77,14	85,77	6,72
T2	Rata I	121,28	79,43	83,49	7,87
T2	Rata II	120,99	77,14	75,52	6,94
T2	Rata III	120,12	78,29	71,73	5,50
T2	Rata IV	109,91	78,86	72,87	6,91
T2	Rata V	115,16	74,86	83,11	7,45
T3	Rata I	100,58	81,71	63,38	7,07
T3	Rata II	92,42	82,29	58,44	6,20
T3	Rata III	96,79	85,14	64,52	6,60
T3	Rata IV	100,58	82,29	63,00	8,00
T3	Rata V	109,62	83,43	61,48	7,36
T4	Rata I	87,17	73,71	54,27	8,23
T4	Rata II	93,59	74,86	51,61	8,26
T4	Rata III	88,05	65,14	55,41	8,09
T4	Rata IV	84,26	77,71	52,75	9,18
T4	Rata V	74,34	73,14	56,17	8,51

Fuente. Elaboración propia.

**Anexo N° 4.** Determinaciones bioquímicas 4<sup>ta</sup> evaluación.

DETERMINACIONES BIOQUIMICAS					
TRATAMIENTO	ESPECIMEN	EVALUACIONES 09/03/14			
		GLUCOSA (mg/dl)	COLESTEROL (mg/dl)	TRIGLICERIDOS (mg/dl)	CALCIO (mg/dl)
T1	Rata I	129,15	77,14	90,70	6,97
T1	Rata II	137,03	38,78	86,91	6,66
T1	Rata III	127,11	73,71	88,43	6,37
T1	Rata IV	128,86	73,71	86,53	6,07
T1	Rata V	130,32	78,29	87,67	6,68
T2	Rata I	151,31	105,71	141,18	6,20
T2	Rata II	148,10	113,14	136,24	5,95
T2	Rata III	143,73	109,71	138,52	6,68
T2	Rata IV	151,90	108,00	139,66	6,21
T2	Rata V	145,48	112,00	137,38	7,08
T3	Rata I	144,02	98,86	122,96	6,66
T3	Rata II	141,11	99,43	127,13	5,05
T3	Rata III	147,52	106,86	121,82	6,34
T3	Rata IV	144,02	106,86	128,27	8,23
T3	Rata V	142,57	104,57	126,00	5,90
T4	Rata I	84,26	73,14	54,65	8,62
T4	Rata II	93,00	73,71	53,51	8,62
T4	Rata III	88,92	68,57	54,27	8,12
T4	Rata IV	87,17	75,43	53,51	9,25
T4	Rata V	83,67	74,86	55,03	8,46

Fuente. Elaboración propia.

**Anexo N° 5. Evaluación del Peso corporal.**

TRATAMIENTO	ESPECIMEN	PESOS			
		26/01/2014	07/02/2004	19/02/2014	08/03/2014
T1	Rata I	250	282	296	344
T1	Rata II	250	308	322	358
T1	Rata III	274	284	298	368
T1	Rata IV	238	262	262	286
T1	Rata V	272	310	322	354
T2	Rata I	254	284	286	388
T2	Rata II	246	260	272	396
T2	Rata III	252	268	274	386
T2	Rata IV	262	283	289	310
T2	Rata V	240	270	172	388
T3	Rata I	260	268	276	376
T3	Rata II	264	270	278	386
T3	Rata III	266	270	276	388
T3	Rata IV	265	274	274	394
T3	Rata V	270	290	296	308
T4	Rata I	238	276	274	296
T4	Rata II	266	298	306	342
T4	Rata III	258	274	290	314
T4	Rata IV	252	314	316	354
T4	Rata V	272	294	312	324

Fuente. Elaboración propia.

**Anexo Nº 6. % Ganancia de peso corporal.**

% Ganancia de peso corporal				
ESPECIMEN	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)	T4 (%)
R1	38	53	45	24
R2	43	61	46	29
R3	34	53	53	22
R4	18	18	18	40
R5	30	62	62	19
<b>PROMEDIO</b>	33	46	41	29

Fuente. Elaboración propia.

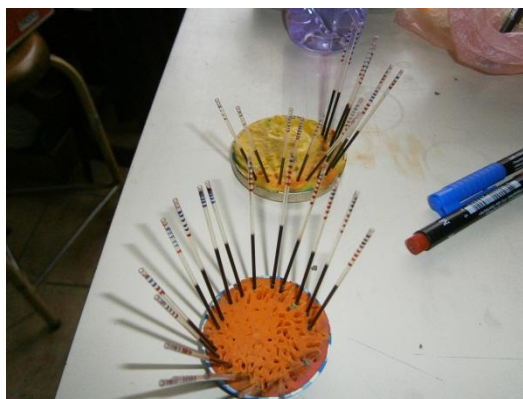
**Anexo Nº 7. Jaula de tratamientos de ratas Wistar.**



**Anexo N° 8. Toma de muestra de sangre**



**Anexo N° 9. Capilares heparinizados con muestra de sangre.**



**Anexo N° 10. Capilares heparinizados en la Estufa de centrifugación.**



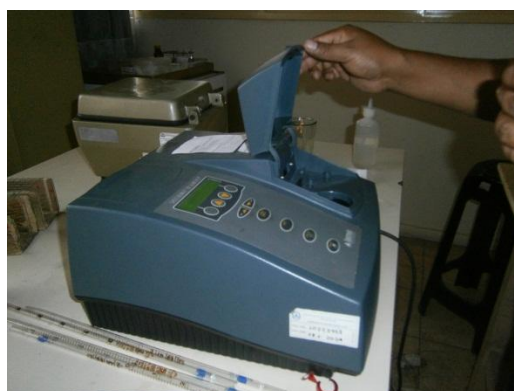
**Anexo N° 11.** Colocación de plasma en los tubos con reactivo.



**Anexo N° 12.** Tubos con muestra y reactivos enzimático.



**Anexo N° 13.** Espectrofotómetro.



**Anexo Nº 14. Reactivos enzimáticos.**



**Anexo Nº 15. Reactivos enzimáticos colorimétricos.**



**Anexo Nº 16. Materiales de laboratorio.**



**Anexo N° 17. Materiales de vidrio del laboratorio.**



**Anexo N° 18. Balanza CAMRY**



**Anexo N° 19. Centrifuga GELEC**



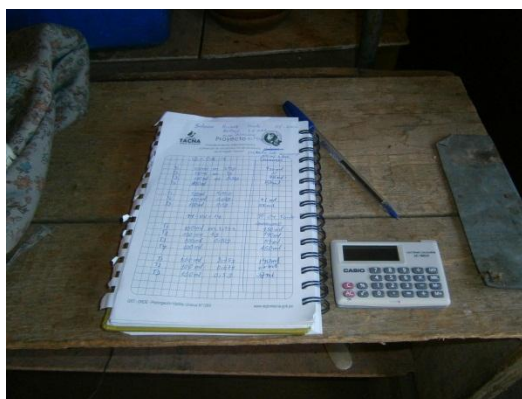
**Anexo N° 20. Micropipeta y Tips**



**Anexo N° 21. Trampa de madera.**



**Anexo N° 22. Materiales de escritorio.**



**Anexo Nº 23. Material de limpieza.**



**Anexo Nº 24. Alimento NICOVITA**



**Anexo Nº 25. Materiales para la alimentación.**



**Anexo N° 26.** Materiales para la alimentación.



**Anexo N° 27.** Materiales para la bebida.



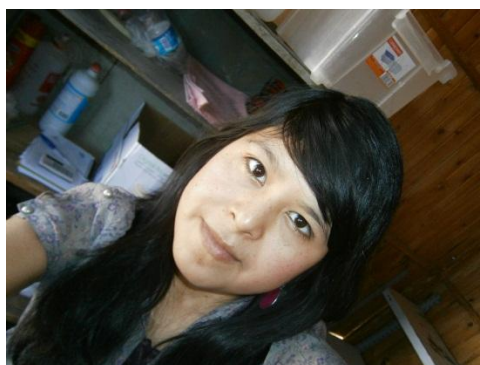
**Anexo N° 28.** Bioterio de la UNSA



**Anexo Nº 29. Laboratorio de Análisis Biológicos.**



**Anexo Nº 30. Tesista**



**Anexo Nº 31. Animales de experimentación.**





.....

Bach. Elizabeth Gladys Cahuaya Chuquicallata  
Tesisista.



.....

Blgo. Víctor Carbajal Zegarra.  
Asesor