

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

"Evaluación biológica de una botana horneada de *Oxalis tuberosa* en un modelo animal"

T E S I S PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRO EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

PRESENTA:

Ing. Fernando Aguilar Ramirez

Directora:

Dra. Norma Güemes Vera

Asesores:

Dr. Juan Ocampo López

Dr. Javier Piloni Martini

Dra. Aurora Quintero Lira



Tulancingo de Bravo, Hidalgo, Noviembre 2018.



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

School of Forestry and Environmental Studies

COORDINACION DE INVESTIGACION Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Evaluación biológica de una botana horneada de Oxalis tuberosa en un modelo animal", que desarrolla el estudiante I.A.I. Fernando Aguilar Ramírez

Asistentes:

Dra. Norma Guemes Vera

Dr. Juan Ocampo López

Dr. Javier Piloni Martini

Dra. Aurora Quintero Lira

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a el estudiante, I.A.I. Fernando Aguilar Ramirez, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. El estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que el estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR ORDER Y PROGRESO"

LA TO ME CENCIAS

Tulancingo de Brave Hidalgo a 12 de noviembre de 201

Dra. Norma Guemes Vera

Dr. Juan Ocampo Lopez

Dr. Javier Piloni Martini

Dra. Aurora Quintero Lira











Agradecimientos:

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada para la realización de estudios de Maestría, de la cual deriva este trabajo de investigación.

A mi alma mater, la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, por ser el ente rector de mi formación académica, y por inculcarme los ejes y valores que guían mi actuar, Amor, Orden y Progreso.

A mis hermanos Mary, Josué y Moy, porque sé, que en cualquier adversidad siempre puedo contar con ustedes. "Uno para todos y todos para uno"

A Christian, Job, Luis, por siempre alentarme a luchar para lograr mis objetivos, por todos esos momentos de risas y reflexiones interminables, Shamed, gracias por siempre apoyarme, incluso en los momentos más difíciles y en las decisiones más descabelladas.

Dra. Norma, gracias por todas sus enseñanzas y su apoyo para mi crecimiento tanto académico como personal, usted es parte fundamental de este logro, Dr. Piloni, Dr. Ocampo y Dra. Aurora, gracias por sus atinadas observaciones y comentarios para la realización de este trabajo de investigación, así como por permitirme aprender de ustedes.

Lic. Memo, Lic. Toño, Dr. Otilio y Dr. Toño, gracias por todos los consejos, enseñanzas y por la confianza que han tenido hacia mi persona.

A mi crew, Denis, Uriel y Nestor, muchas gracias por las horas de estudio, risas y aprendizaje, no pude encontrar un mejor equipo durante este caminar.

A mi madre, porque sin ti nada de esto sería una realidad, por todas esas palabras de aliento durante los momentos más difíciles de mi vida, gracias por ser mi ejemplo de lucha incansable, nunca existirán las palabras suficientes para decirte cuanto te agradezco todo lo que has hecho y sigues haciendo por mí, te amo Mamá.

GRACIAS POR TODO

Abreviaturas

ABTS 2,29-azinobis- 3-etillbenzothiazolina-6-ácido sulfónico.

DNS 3.5-dinitrosalisilico.

DPPH 2-2difenil-1-picrilhidrazil.

GOD/POD Glucosa oxidasa/Peroxidasa.

HCI Ácido clorhídrico.

KOH Hidróxido de potasio.

μg Microgramos.

μl Microlitros.

µmol Micromol.

mL Mililitros.

dL Decilitro.

mg Miligramos.

M Molaridad.

N Normalidad.

nm Nanómetros.

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUCCIÓN	3
2 ANTECEDENTES	5
2.1 Botanas	5
2.2 Industria de las botanas a nivel nacional	6
2.3 Maíz (Zea mays)	6
2.4 Oxalis tuberosa	7
2.5 Composición química de <i>Oxalis tuberosa</i>	8
2.6 Antioxidantes	10
2.6.1 Contenido de antioxidantes de <i>Oxalis tuberosa</i>	11
2.7 Almidón	12
2.8 Radicales libres	12
2.9 Alimento funcional y el consumidor actual	13
2.10 Estrés oxidativo	14
2.11 Obesidad y alimentación	15
2.12 Diabetes y alimentación	16
3 JUSTIFICACIÓN:	17
4 OBJETIVOS	18
4.1 Objetivo general:	18
4.2 Objetivos específicos:	18
5 MATERIALES Y MÉTODOS	19
5.1 Materias primas	19
5.2 Obtención de la harina mezcla de papa roja (Oxalis tuberosa) y m	aíz amarillo (<i>Zea</i>
mays)	19

5.3 Elaboración de la botana horneada19
5.4 Análisis químico proximal (Harina, botana horneada, comercial y heces) 20
5.5 Determinación del almidón total
5.6 Determinación de almidón resistente
5.7 Determinación de antioxidantes
5.7.1 Determinación de fenoles totales
5.7.2 Determinación de la actividad antioxidante por ABTS (% de inhibición) 25
5.7.3 Determinación de la actividad antioxidante por DPPH (% de inhibición EC50)26
5.8 Animales y su alimentación (Alimento de mantenimiento, Botana de Maíz, Botana
horneada de <i>Oxalis tuberosa</i>)
5.9 Análisis sanguíneo27
5.10 Ensayos biológicos de crecimiento
5.11 Técnica histológica
6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO
7 HIPÓTESIS
8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN
8.1 Análisis químicos proximales de la mezcla de harinas, botana comercial y botana
horneada32
8.2 Contenido de almidón total y almidón resistente
8.3 Contenido total de polifenoles
8.4 Actividad antioxidante
8.4.1 ABTS37
8.4.2 DPPH (Concentración mínima inhibitoria)
8.5 Experimentación animal
8.5.1 Dietas suministradas
8.5.2 Parámetros de crecimiento

	8.5.3 Ganancia de peso	43
	8.5.4 Análisis químico proximal en heces	45
	8.5.5 Contenido de triglicéridos en sangre	48
	8.6.6 Contenido de glucosa en sangre (mg/dL)	50
8	3.7 Histopatología:	52
	8.7.1 Hígado:	52
	8.7.2 Riñón:	52
	8.7.3 Páncreas:	53
	8.7.4 Intestino delgado:	54
9	CONCLUSIONES	59
10	BIBLIOGRAFÍA	60
11	Anexos	68

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1.Posibles formas y colores de la <i>Oxalis tuberosa</i>
Figura 2. Función de un antioxidante
Figura 3. Proceso para la obtención de harina de <i>Oxalis tuberosa</i>
Figura 4. Reacción Folin-Ciocalteu
Figura 5.Reacción de inhibición del radical ABTS
Figura 6. Ejemplar de rata Wistar utilizada en este proceso de experimentación 27
Figura 7. Equipos y tiras reactivas usadas para la medición de glucosa y triglicéridos. 27
Figura 8. Procesador automatizado de tejidos, marca Microm modelo TP1020 29
Figura 9. Microtomo marca Leica, modelo RM125RT99
Figura 10. Baño de flotación de tejidos marca Premiere, modelo XH-1001 31
Figura 11. Curva de inhibición EC ₅₀ del después de 60 min de exposición
Figura 12. Contenido de triglicéridos en sangre (Mes 1)
Figura 13. Contenido de triglicéridos en sangre (Mes 2)
Figura 14. Hígado. Rata. H-E. 400x. A. Grupo alimentado con alimento comercial. B.
Grupo alimentado con botana comercial. C. Grupo alimentado con botana elaborada con
harina de Oxalis tuberosa
Figura 15. Riñón. Rata. H-E. 400x. A. Grupo alimentado con alimento comercial. B. Grupo
alimentado con botana comercial. C. Grupo alimentado con botana elaborada con harina
de Oxalis tuberosa
Figura 16. Páncreas. Rata. H-E. 400x. A. Grupo alimentado con alimento comercial. B.
Grupo alimentado con botana comercial. C. Grupo alimentado con botana elaborada con
harina de Oxalis tuberosa
Figura 17. Intestino delgado. Rata. H-E. 400x. A. Grupo alimentado con alimento
comercial. B. Grupo alimentado con botana comercial. C. Grupo alimentado con botana
elaborada con harina de Oxalis tuberosa

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1. Tabla comparativa del contenido de almidón, proteína, grasa y ceniza	7
Tabla 2. Composición química de la <i>Oxalis tuberosa</i>	9
Tabla 3. Contenido total de compuestos antioxidantes sobre peso fresco en 6 geno	otipos
de Oxalis tuberosa	11
Tabla 4. Análisis proximal de harina y botanas procesadas	34
Tabla 5. Contenido de almidón total y almidón resistente	35
Tabla 6. Contenido total de polifenoles	36
Tabla 7. Porcentaje de inhibición del radical ABTS	37
Tabla 8. Dietas suministradas a cada grupo de experimentación	40
Tabla 9. Información nutrimental de las dietas suministradas a los animales de	
experimentación	40
Tabla 10. Parámetros de crecimiento y eficiencia alimentaria	42
Tabla 11. Ganancia de peso vivo a través del tiempo (g)	44
Tabla 12. Análisis químico proximal de heces	47
Tabla 13. Contenido de glucosa en sangre mg/dL de los tres grupos de	
experimentación (Registro semanal).	51

RESUMEN

Hoy en día el consumo de alimentos saludables es una tendencia entre los consumidores, por lo que el objetivo de este trabajo es generar, caracterizar y evaluar un nuevo alimento de fácil adquisición y sabor agradable, que además de tener un buen contenido nutricional, aporte factores nutricionales como los antioxidantes y el almidón resistente los cuales mejoran la salud del consumidor y ayuda a prevenir los riesgos de contraer enfermedades crónico degenerativas. El nuevo alimento es una botana horneada elaborada con una harina obtenida de la mezcla de 50% de harina de Oxalis tuberosa y 50% de harina de maíz amarillo; en su proceso de elaboración la humedad de la mezcla de harinas fue incrementada hasta un 30% y horneada a 120°C durante 15 minutos. Dicha botana, al igual que la harina cruda y la botana comercial fueron analizadas fisicoquímicamente siguiendo la metodología de la AOAC, 2000. El contenido total de polifenoles fue evaluado mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu obteniendo 2.68±0.072 y 2.38±0.016 mg GAE/g en base seca para la harina cruda y la botana horneada respectivamente. Para el ensayo ABTS un porcentaje de inhibición de 52.01% fue obtenido para la harina cruda y 53.76% para la botana horneada. En cuanto al radical DPPH, fue realizada una prueba de concentración mínima inhibitoria a través de una hora, donde con 0.150g/mL un porcentaje de inhibición de 71.36% fue obtenido con la harina cruda y 65.08% con la botana horneada al finalizar dicho periodo de tiempo. Para determinar el contenido de almidón total y almidón resistente fueron utilizados kits enzimáticos de la marca megazine y el total de carbohidratos contenidos en la harina cruda fue de 66.98% y 64.83% en la botana horneada, en almidón resistente, la harina cruda tuvo 11.95% y la botana horneada 9.98%. La botana fue evaluada biológicamente en 24 ratas tipo Wistar separadas en tres grupos, a quienes se les reviso semanalmente el índice glucémico y el contenido de triglicéridos en sangre, así como algunos parámetros de crecimiento (Consumo diario de alimento eficiencia alimenticia, coeficiente alimentario, digestibilidad aparente y ganancia de peso), una vez finalizado el periodo de experimentación los animales fueron eutanasiados y su hígado, riñón, intestino y páncreas fueron extraídos, para ser revisados mediante cortes histológicos, con la finalidad de evaluar posible daño tisular, los principales cambios morfológicos detectados fueron a nivel renal, especialmente en el grupo de animales alimentados con botana comercial, este efecto fue menos severo en aquellos alimentados con botana a base de harina de *Oxalis tuberosa*.

Nowadays the consumption of healthy foods is a trend among consumers, so the objective

ABSTRACT:

of this work is to generate, characterize and evaluate a new food of easy acquisition and good taste, which in addition to having a good nutritional content, contributes factors nutritional such as antioxidants and resistant starch which improve consumer health and help prevent the risks of chronic degenerative diseases. The new food is a baked snack made with 50% Oxalis tuberosa flour and 50% yellow corn flour; in its manufacturing process its humidity was increased up to 30% and baked at 120 ° C for 15 minutes. Said snack, like the raw flour and the commercial snack were analyzed physicochemically by means of the AOAC methodology, 2000. The total content of polyphenols was evaluated by the Folin-Ciocalteu colorimetric method obtaining 2.68 ± 0.072 and 2.38 ± 0.016 mg GAE / g dry sample for raw flour and baked snack respectively. For the ABTS test, a percentage of inhibition of 52.01% was obtained for the raw meal and 53.76% for the baked snack. Regarding the DPPH radical, a test of minimum inhibitory concentration was carried out over one hour, where with 0.150g / mL a percentage of inhibition of 71.36% was obtained with raw flour and 65.08% with the baked snack at the end of said period of time. To determine the content of total starch and resistant starch enzymatic kits of the brand megazine were used and the total of carbohydrates contained in the raw flour was 66.98% and 64.83% in the baked snack, in resistant starch, the raw flour had 11.95% and the baked snack 9.98%, it was evaluated biologically in 24 Wistar rats separated in three groups, to which their content of glucose and triglycerides in blood were checked weekly, as well as some growth parameters (Daily consumption of food, food efficiency, food coefficient, apparent digestibility and weight gain). After the experimental period, the animals were euthanized and their liver, kidney, intestine and pancreas were extracted, to be reviewed by histological sections, in order to evaluate possible tissue damage, the main morphological changes detected were at the kidney level, especially in the group of animals fed with commercial snack, this effect was less severe in those fed with snack based on *Oxalis tuberosa* meal.

1 INTRODUCCIÓN

En la literatura han sido reportados algunos aspectos de la morfología y propagación de la *Oxalis tuberosa*, entre otras características de este cultivo, así como sobre sus beneficios para para la salud humana, que entre lo más destacable es que tiene una gran actividad antioxidante, así como un contenido significativo de almidón resistente, proteínas y algunos minerales entre otros nutrientes, así como su permanencia después de procesos térmicos, lo que permitió poder dilucidar su aplicación como un alimento funcional y poder visualizar las posibilidades benéficas que este producto podría tener. El cultivo de la *Oxalis tuberosa* está muy extendido a lo largo del continente americano, esto debido a su fácil adaptación como cultivo a los diversos climas y tipos de suelo, a su agradable sabor agridulce, así como a la variedad de platillos que pueden ser preparados con este, aunque en México es consumido principalmente en fresco, en países como Perú, forma parte de una gran tradición de platillos regionales (Hernández, *et al.*, 2004).

El mercado y gusto de los consumidores en general, han ido cambiando con el paso de los años, hoy en día, la sociedad busca llevar a cabo una ingesta de alimentos más "responsable" ya que se ha demostrado que el consumo de alimentos está estrechamente relacionado con la salud del consumidor, incluso la OMS (Organización Mundial de la Salud) reconoce que el 60% de las muertes por cáncer están relacionadas directamente con los hábitos alimenticios de los individuos (Baduí, 2013). Por lo que, en las últimas décadas, varios estudios epidemiológicos han estudiado y mostrado que la ingesta diaria de alimentos ricos en ciertos componentes como los antioxidantes naturales están estrechamente relacionados con una reducción de la probabilidad de padecer enfermedades crónico degenerativas debido a la reducción de estrés oxidativo en diversos órganos (Porkony, et al., 2001). Dichas enfermedades crónico degenerativas son englobadas en tres, específicamente cáncer, diabetes, obesidad, por lo cual, en este trabajo se buscó generar un alimento funcional que ayude a la prevención de dichos

padecimientos, y que además de aportar nutrientes a los consumidores, produzca beneficios a la salud, en este caso un alto contenido de antioxidantes (Ovaskaien, *et al.,* 2006).

La realización de este trabajo de investigación, constó de diferentes etapas, desde la preparación de la botana a base de *Oxalis tuberosa* mediante un proceso de deshidratación del tubérculo y molienda, para después mezclar con la harina de maíz y posteriormente realizar la botana bajo un proceso térmico de horneado, realizar pruebas para conocer su actividad y potencial antioxidante así como características fisicoquímicas, otorgar el consumo de dicha botana *ad libitum* para un modelo animal (Ratas linaje Winstar) separado en tres grupos, cada uno con dietas diferentes, un control con dieta para animales de laboratorio, un segundo grupo alimentados con botanas 100% de maíz y un tercer grupo elaborado con la botana con base en *Oxalis tuberosa*, el monitoreo diario de parámetros variables como índice glucémico sanguíneo, peso ganado, alimento consumido, absorción de nutrientes y la observación de cambios histopatológicos en hígado, riñón, intestino y páncreas, con la intención de evaluar beneficios causados o daños evitados debido al alimento consumido por cada grupo.

2 ANTECEDENTES

2.1 Botanas

Una botana es definida como un alimento de bajo peso, fácil de manipular, lista para comer en cualquier momento, accesible y capaz de saciar el apetito por un breve tiempo, lo que las hace un producto adquirido por muchas personas en todo el mundo sin importar la edad, el género e incluso el estatus social (Camacho, *et al.* 2014), además es un producto que puede consumirse como colación entre comidas, y tiene la ventaja de adquirir diversas formas, lo que le da una ventaja comercial (Sajilata y Singhal, 2005). El aumento en la compra de botanas es uno de los principales cambios en la dieta, y que se consideran como uno de los principales motivos del incremento en los problemas mundiales de obesidad ya que la mayoría de las botanas que se encuentran en el mercado tienen un alto contenido energético, atribuido principalmente a su contenido en azúcares y grasa (Cees, 2006). Dicha situación ha conllevado a que la industria productora de las botanas a base de cereales sea cada día más grande e importante, en general es posible dividir la manufactura de botanas en tres grandes categorías, productos enteros, productos nixtamalizados y productos extruidos (Serna, 2013).

En general, la mayoría de las botanas son consideradas como productos con alto contenido energético, gran densidad y baja aportación de nutrientes, características por completo adversas a lo que podría considerarse como un producto saludable ya que, por lo contrario son bajas en calorías, grasa, azúcar y altas en micronutrientes y fibra, lo que las convierte en un producto que podría ser recomendado entre cada comida, como colación por su aporte nutricional y mejoría a la calidad de la dieta (Azadbaknt, *et al.* 2015).

2.2 Industria de las botanas a nivel nacional

En México, las botanas son un producto muy popular ya que puede cubrir necesidades del consumidor actual, como su fácil accesibilidad, precio, sabor y una muy amplia variedad de sabores, formas, presentaciones y precios, lo que lo hace un producto consumido por todas las clases sociales, edades y géneros. Además de dichas cualidades, las botanas han sido muy populares debido a que pueden consumirse en cualquier momento del día, reuniones, fiestas o simplemente como una colación (Morales, *et al.* 2016).

EL sector de las botanas se encuentra en auge con un valor de mercado de 3419 millones de dólares, ofertando diversos tipos de botanas, principalmente los derivados de papas y maíz (Camacho, *et al.*, 2014), dato que es respaldado con la información generada por Uribe (2015), quien menciona que el consumo de botanas en México es de 4kg per cápita y proyecta el mensaje de que irá en aumento durante los próximos años.

2.3 Maíz (Zea mays)

El maíz es utilizado tanto para alimentación animal, como para consumo humano, con lo que una enorme cantidad de productos pueden ser elaborados como jarabe, azúcar, cerveza, alcohol, botanas, entre otros. El maíz constituyó la dieta fundamental de las primitivas civilizaciones en muchas partes del mundo (Baduí, 2013).

El grano de maíz es de color muy variable, puede encontrarse en muchas variables, mostrando un color uniforme o incluso muestras de diferentes colores y tamaños, encontrando tonos que van desde el blanco al pardo oscuro o púrpura, mayormente en blanco y amarillo, en general los granos de maíz son muy duros y su molienda puede llevarse a cabo tanto de forma húmeda como seca, según sea el producto que se desee obtener (Hoseney, 1991).

En la tabla 1, es mostrada una comparación entre diversos componentes del maíz y sus diferencias con respecto a la *Oxalis tuberosa*.

2.4 Oxalis tuberosa

Oxalis tuberosa es un tubérculo almidonoso domesticado en la región andina desde la aparición de la civilización Inca, su cultivo y consumo está posicionado en segundo lugar de producción, solo por debajo del de la papa (Solanum tuberosum). Este tubérculo crece principalmente en las zonas altas de Ecuador, Perú y Bolivia, aunque también en algunas partes de Chile, Argentina, Colombia y Venezuela (Chirinos, et al. 2009).

Este producto es conocido con diversos nombres según la zona en la que se le encuentre, por ejemplo, en Perú y Ecuador es llamado oca, ibia en Colombia, ruba, timbo y quiba en Venezuela, papa roja, papa colorada o papa extranjera en México (FAO, 1994). En México la *Oxalis tuberosa* fue introducida hace aproximadamente doscientos años (Hernández, *et al.*, 2004).

La forma de este tubérculo varía desde estructuras ovoides, cilíndricas, claviformes y pueden ser encontrado en variedades de color que van desde blanco rojo claro, rojo intenso, hasta purpura (Melchiorre, 1985), características que pueden ser observadas en la Fig.1. El color normalmente es considerado como un factor fisiológico que determina la aceptabilidad de un producto, pero que además diversos estudios han revelado que dichos colorantes proveen al alimento de actividad antioxidante, los cuales han sido considerado como benéficos para la salud humana; en ese orden, cabe mencionar que la *Oxalis tuberosa* ocupa el lugar número dos en términos de capacidad antioxidante solo por debajo de *Tropaeolum tuberosum* y por encima de *Ullucus tuberosus* (Alcalde, et al., 2004; Chirinos, et al., 2009). Una de sus principales ventajas es el alto contenido de antioxidantes, Chirinos, et al. (2009) la variedad *Oxalis tuberosa* puede contener desde 40.8 mg de GAE/ g de muestra fresca, hasta 161. 8 mg de GAE/ g de muestra fresca, tal y como es mostrado en la tabla 3.

Tabla 1. Tabla comparativa del contenido de almidón, proteína, grasa y ceniza.

Cultivo	Almidón %	Proteína %	Grasa %	Cenizas %
Oxalis tuberosa	90.5 ± 1.3	0.34 ± 0.01	0.52 ± 0.01	0.52 ± 0.01
Zea mays	91.4 ± 1.8	0.54 ± 0.00	0.10 ± 0.05	0.52 ± 0.00

[±] Desviación Estándar

Fuente: Hernandez, et al., 2004



Figura 1. Posibles formas y colores de la Oxalis tuberosa.

2.5 Composición química de Oxalis tuberosa

El tubérculo *Oxalis tuberosa* es considerado una buena fuente de energía a pesar de que su contenido de grasa es bajo (<0.50 g/100g de materia seca), los valores de energía reportados son de 61 kcal/100 g de materia fresco, y por 100 g de materia seca los valores de energía son de 325 kcal (Marroú, *et al.*, 2011; FAO, 1994). La composición fisicoquímica de la *Oxalis tuberosa* se muestra en la tabla 2 donde es posible observar desde el contenido de macronutrientes hasta algunos minerales y vitaminas que pueden ser encontradas en *Oxalis tuberosa*, siendo los carbohidratos el compuesto mayoritario después de a humedad.

Tabla 2. Composición química de la Oxalis tuberosa

Compuesto	Contenido/100g		
	materia fresca		
Humedad	86.79 g		
Proteína	0.77 g		
Extracto etéreo	0.47 g		
Fibra cruda	0.78 g		
Carbohidratos	10.41 g		
Cenizas	0.78 g		
Potasio	-		
Fosforo	28.20 mg		
Hierro	12.53 mg		
Sodio	-		
Magnesio	-		
Calcio	17.18 mg		
Cinc	1.79 mg		
Vitamina A	0.99 mg		
Vitamina B1	0.05 mg		
Vitamina B2	0.94 mg		
Vitamina B3	1.09 mg		
Vitamina B6	-		
Vitamina B12	0.91 mg		
Vitamina C	39.68 mg		

Fuente: (Marroú, et al., 2011).

2.6 Antioxidantes

Los antioxidantes naturales son definidos como aquellas sustancias con posibilidad de ser extraídas de plantas, hongos e incluso algunos tejidos naturales. La mayoría son compuestos fenólicos, es decir metabolitos secundarios de las plantas, entre los cuales, los principales grupos se clasifican en: tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos, los flavonoides a su vez son subdivididos en varios grupos como los flavonoles, antocianinas y flavanoles. La donación de electrones para estabilizar a los radicales libres es el principal mecanismo de acción de los antioxidantes, dicho mecanismo es mostrado en la Fig. 2 (Porkony, et al., 2001; Chirinos, et al., 2009). Una desventaja de la mayoría de los antioxidantes es su alta susceptibilidad a los tratamientos térmicos, lo que ha sido reportado en diversos trabajos de investigación, el contenido de antioxidantes encontrados en diversos alimentos sufren una disminución durante los procesos de transformación que incluyen algún tipo de tratamiento térmico como pueden ser cocción, deshidratación, freído, horneado, entre otros, aunque dicha disminución se ve modificada, dependiendo de la matriz alimenticia que cubra dichos antioxidantes y la intensidad del tratamiento térmico (Juániz, et al., 2016).

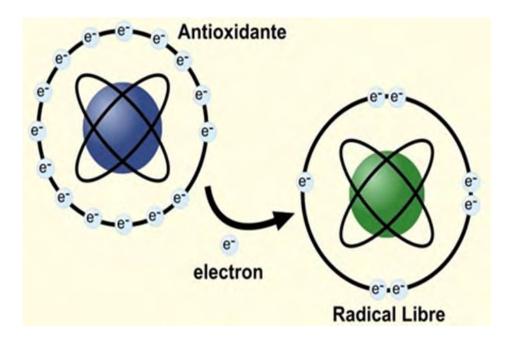


Figura 2. Función de un antioxidante.

2.6.1 Contenido de antioxidantes de Oxalis tuberosa.

Un estudio realizado por Chirinos, et al. (2009), donde se llevó a cabo una prueba de HPLC-DAD para determinar el contenido y tipos de antioxidantes de *Oxalis tuberosa*, mostró que el tipo de antioxidante más común presente en diversos genotipos de *Oxalis tuberosa* son las antocianinas seguidas por los flavonoles, dichos resultados son mostrados en la tabla 3. Alcalde-Eon, *et al.*, (2014), quienes también realizaron, mediante HPLC-DAD el análisis para identificar algunas de las diferentes antocianinas contenidas en *Oxalis tuberosa*, encontrando ocho tipos diferentes, lo que avala los resultados mostrados previamente por Chirinos, et al. (2009), sobre la presencia de antocianinas en *Oxalis tuberosa*, y en cuanto al contenido total de polifenoles dichos resultados coincidieron con lo reportado por Campos, *et al.*, (2006).

Tabla 3. Contenido total de compuestos antioxidantes sobre peso fresco en 6 genotipos de Oxalis tuberosa.

Genotipos de	Fenoles	Flavonoides	Antocianinas	Flavonoles
Oxalis	totales (mg	totales (mg	totales (mg	totales (mg
tuberosa	GAE/100 g)	CE/100 g)	CGE/100 g)	QE/100 g)
COC-537	138.1±2.2 ^d	9.8±0.7 ^{c,d}	22.8±3.0 ^b	0.75±0.05 ^a
COC-450	161.8±8.1 ^e	10.7±0.7 ^d	47.4±1.0°	1.11±0.13 ^a
M-2032	88.0±12.1°	9.4±0.1°	No detectado	Trazas
COC-039	48.5±2.9 ^b	1.26±0.4 ^a	0.53±0.15 ^a	Trazas
UNC-O-226	40.8±3.4 ^a	1.22±0.7 ^a	No detectado	Trazas
UNC-O-338	49.9±1.0 ^b	2.12±0.1 ^{a,b}	No detectado	Trazas

[±] Desviación Estándar

Fuente: Chirinos, et al., 2009.

a,b,c Diferencias significativas (p<0.05)

2.7 Almidón

El almidón es definido como la fuente de carbohidratos por excelencia dentro de la dieta humana, es encontrado en diversos tejidos de plantas y tubérculos como un forma de almacenamiento de polisacáridos, consistente de dos homopolímeros constituidos de D-glucosa conocidos como amilosa y amilopectina unidos mediante enlaces α -D (1-4) y α-D(1-6), donde la amilosa contiene aproximadamente 1000 unidades de glucosa y la amilopectina cerca de 4000 unidades (Inan y Buyuktuncer, 2017). (Inan & Buyuktuncer, 2017). El estado físico del almidón es una de las principales características para ser clasificado, dicho estado físico esta dado por la accesibilidad de las enzimas digestivas para degradarlo, existen 3 principales clasificaciones, los que se digieren de manera rápida (RDS, por sus siglas en ingles), los que se digieren de manera lenta (SDS, por sus siglas en ingles) y los que no son digeridos en ningún grado, también llamados almidones resistentes (RS, por sus siglas en ingles), (Parada y Rozowski, 2007).

El almidón resistente es definido como la suma de almidón y productos del almidón no digeribles ni hidrolizables en el intestino delgado, este compuesto, en los últimos años ha recibido considerable atención debido a los beneficios que aporta al organismo, de manera muy similar al accionar de la fibra dietética (Kittipongpatana y Kittipongpatana, 2015). Entre sus propiedades benéficas, además de su función como fibra dietética se encuentra la generación de cadenas cortas de ácidos grasos durante su fermentación en el intestino, lo que beneficia de manera directa a la microbiota intestinal (Yadav, *et al.*, 2010).

2.8 Radicales libres

Un radical libre es definido como un átomo o grupo de átomos que contiene un electrón desapareado dentro de una estructura, es decir, es la existencia de un electrón que no tiene una pareja con spin opuesto dentro de un átomo o grupo de átomos. En la mayor parte de los casos, los radicales libres son encontrados en especies altamente reactivas con un tiempo de vida media relativamente corto, de 1 s, tiempo más que necesario para

reaccionar con alguna molécula interna para desestabilizarla o neutralizarla (Konigsberg, 2008). Los radicales libres se producen inevitablemente en grandes cantidades dentro del organismo, como un subproducto de muchos procesos bioquímicos, y en algunos casos de manera necesaria ya que algunos funcionan como mecanismo de defensa o de balance en respuesta al ambiente, algunos de los ejemplos más comunes de radicales incluyen el radical hidroxilo (OH-), anión superóxido (O2-), metales de transición como hierro y cobre, óxido nítrico (NO-) y peroxinitrito (ONOO-). El radical hidroxilo, es considerado el oxidante más potente y con mayor capacidad de reaccionar con la mayoría de las moléculas biológicas que resultan en la propagación de reacciones en cadena de radicales libres (Betteridge, 2000). Los radicales libres pueden ingresar al cuerpo mediante los alimentos, la radiación solar o por los procesos metabólicos del organismo, donde pueden generarse especies reactivas de oxígeno, las cuales pueden causar daño a las células, tejidos y órganos, principalmente debido a la lipoperoxidación de los lípidos, es decir la oxidación de algunas moléculas de lípidos (Yin, *et al.*, 2011).

2.9 Alimento funcional y el consumidor actual

Entre la población existe cada vez mayor conciencia sobre la influencia que ejercen los alimentos en la salud, al mismo tiempo, gracias a los avances tecnológicos cada día se encuentra alguna función benéfica o dañina a muchas sustancias que son ingeridas como parte de una dieta normal (Baduí, 2013).

Hoy en día, la industria de los alimentos ha buscado producir alimentos con una apariencia similar a la de un alimento convencional, con la firme intención de que dicho producto pueda consumirse como parte de una dieta normal, pero que además presente propiedades benéficas para el consumidor, como la posibilidad de reducir el riesgo de contraer enfermedades crónico-degenerativas, además del aporte nutricional normal del alimento, dichos productos han sido nombrados como alimentos funcionales (Valencia, et al., 2010).

2.10 Estrés oxidativo

El concepto de estrés oxidativo es definido como un desequilibrio en el organismo con un aumento de oxidantes o con una disminución de antioxidantes, un equilibrio que en condiciones fisiológicas normales debería existir dentro del organismo, sin embargo, dicha situación no es tan posible debido a la dinámica del organismo, donde este va acomodándose a las situaciones que van ocurriendo (Konigsberg, 2008). El estrés oxidativo es considerado por diferentes autores como el origen de muchas enfermedades tales como cáncer, diabetes, hipertensión y problemas cardiovasculares, debido a que puede causar algunos daños en las membranas de la célula que pueden llegar a ser irreversibles, así como modificación de sus proteínas y ácidos nucleicos, cuyo deterioro puede prevenirse mediante la adición de antioxidantes en la dieta o evitando ciertas actividades como el consumo de alimentos fritos. También, ha sido demostrado que el estrés oxidativo es capaz de causar daño debido a que tiene la capacidad de modificar los efectos reguladores de algunos sistemas fisiológicos extendiéndose, incluso, a efectos tóxicos debido a la hiperactivación del eje hipotálamo-hipófisis, sistema regulador hormonal. En este sentido, el organismo cuenta con dos sistemas antioxidantes uno enzimático y el otro no enzimático, ambos cuya función principal es neutralizar los radicales libre formados en el interior del cuerpo por su metabolismo permanente. La alteración oxidativa o estrés oxidativo sucede cuando el balance celular muestra agentes oxidantes por debajo de los antioxidantes endógenos y cuya efectividad disminuye con la edad y además puede verse influenciado por un mal control de peso, genética, dieta y ejercicio físico (Konisberg, 2008; Baduí, 2013).

2.11 Obesidad y alimentación

En los últimos veinte años ha ocurrido un perturbador incremento en la prevalencia de obesidad y sobrepeso en casi todos los países del mundo, siendo incluso para algunos el mayor problema de salud pública en la actualidad (Zaal, *et al.*, 2009).

La obesidad es definida como el exceso de grasa en el cuerpo, esta puede ser total o parcial, es decir, puede presentarse en todo el cuerpo o estar focalizada en una sola sección del cuerpo, cambiando la morfología corporal y es causada por una interacción de diversos factores, como la genética, factores fisiológicos y estilo de vida en los que están incluidos la dieta y la actividad física. Algunos estudios han reportado que hoy en día la gente ha cambiado lo que se conocía como la forma tradicional de consumo de alimentos, que consistía en consumir tres porciones de alimento al día (desayuno comida y cena), por la ingesta de alimentos de forma irregular, con desayunos a deshoras, el consumo de botanas con alto aporte energético y aún más frecuentemente con el consumo de botanas no saludables entre cada comida (Allison, et al., 2008; Azadbakht, et al., 2015). Los recientes cambios en el consumo de alimentos, y la forma de ejercitarse o mantenerse en movimiento han influenciado fuertemente en el incremento de obesidad en las personas, acompañado del fácil acceso a la comida rápida, la disminución o ausencia en el consumo de fruta y vegetales, el incremento del sedentarismo debido a las facilidades de transportación y a las actuales jornadas laborales, así como el incremento de las porciones también han contribuido con la llamada epidemia de obesidad (Zaal, et al., 2009). La obesidad es considerada como una de las causas más importantes en el incremento de riesgo cardiovascular y factores asociados con el síndrome metabólico, como lo puede ser la diabetes, la resistencia a la insulina, alto contenido de colesterol de baja densidad y bajo contenido de colesterol de alta densidad, así como hipertrigliceridemia, hipertensión, e incremento de ácido úrico en la sangre (Lechi, 2016).

2.12 Diabetes y alimentación

La diabetes es una de las enfermedades determinadas como enfermedades metabólicas, caracterizada por generar en el enfermo niveles de glucosa elevados en sangre de manera crónica, así como disturbios en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, como resultado de problemas en la liberación de insulina, la acción de la misma o ambas (Craig, et al., 2009). Es considerada una de las enfermedades con mayor impacto social y económico en muchas partes del mundo, no solo por la frecuencia con la que ocurre, sino por las consecuencias que genera esta enfermedad, tal como el daño, disfunción y falla de varios órganos, que en ausencia de un tratamiento adecuado puede llevar a la muerte de quien la padece (Alberti y Zimmet, 1998; Bosch, et al., 2002). Los niveles de glucosa que hoy en día se consideran para determinar que una persona es diabética deberán ser mayores de 126 mg/dL de glucosa en sangre repetidas ocasiones y los niveles normales deberán ser menores de 110 mg/dL World Health Organization, (2018). La ENSANUT (2016) menciona que en México el 10.3% de las mujeres tienen diabetes, así como el 8.4% de los hombres en el país.

3 JUSTIFICACIÓN:

Este trabajo fue realizado con la finalidad de buscar producir un alimento funcional con alto contenido de antioxidantes y almidón resistente para poder ofrecer un producto que beneficie al consumidor y coadyuve en la prevención de problemas crónico degenerativos como obesidad y diabetes que prevalecen y van en aumento en México tal y como lo menciona la UNICEF (2016), México encabeza el lugar número uno en obesidad infantil, el segundo lugar en obesidad de adultos y el sexto lugar con pacientes diabéticos en el mundo, lo que desencadena una serie de malestares y enfermedades, dañando órganos vitales, haciendo más difícil su posible recuperación, donde la principal causa de dichos daños y malestares son los malos hábitos de alimentación así como abuso de la comida "chatarra", aunado a esto el INEGI (2014) reportó que la producción de snacks en el país asciende a las 22mil 558 toneladas por año (Herrera, 2014).

La adición de antioxidantes en la dieta evita daños en diversos órganos gracias a la protección contra radicales libres, principalmente contra las especies reactivas de oxígeno, así como el consumo de almidones resistentes, lo cual disminuye la velocidad con la que se libera la glucosa en el torrente sanguíneo y mejora la absorción de nutrientes en general, lo que deriva en un apoyo para la prevención y/o control de la diabetes y la obesidad UNICEF, 2016; Konigsberg, 2008). Sera de gran ayuda para el consumidor, que estas acciones sean llevadas a cabo, consumiendo un producto de buen sabor y fácil de transportar y consumir en cualquier hora del día, como lo es una botana, que además es elaborado con un tubérculo de producción regional.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Evaluar el consumo de la botana horneada de *Oxalis tuberosa* para estudiar los posibles cambios biológicos en un modelo animal, así como su efecto sobre algunos órganos vitales.

4.2 Objetivos específicos:

- Determinar la capacidad antioxidante de la botana mediante técnicas de Fenoles totales, ensayo ABTS y DPPH, así como sus propiedades fisicoquímicas.
- Examinar el contenido de almidón total y almidón resistente en la botana y su contenido de azúcares totales y reductores
- Monitorear los cambios en sangre como el índice glucémico y de triacilglicéridos;
 el peso corporal ganado, y el estudio por AQP de las heces en los 3 grupos de ratas Wistar.
- Verificar si se presentan cambios hepáticos, renales e intestinales mediante la observación de cortes histológicos.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materias primas

Papa roja (*Oxalis tuberosa*) fresca, maíz amarillo (*Zea mays*) seco entero y la botana de maíz de marca comercial fueron obtenidos en la central de abastos de Tulancingo de Bravo, Hidalgo, cuyas coordenadas de ubicación son: 20°5'23.95"N, 98°22'16.62"W, así como la botana de maíz de marca comercial.

5.2 Obtención de la harina mezcla de papa roja (*Oxalis tuberosa*) y maíz amarillo (*Zea mays*)

Posterior a la compra de la *Oxalis tuberosa*, esta fue lavada minuciosamente, para posteriormente rebanarlas manualmente consiguiendo piezas de 1cm de grosor aproximadamente, dichas piezas fueron colocadas en un horno de secado Marca Luckie San Juan, Modelo 12, durante un tiempo aproximado de 10 h a una temperatura de 50-55°C, y finalmente las hojuelas de *oxalis tuberosa* y el maíz amarillo fueron triturados en un molino Marca Mierrui Modelo HC-2000, obteniendo dos harinas que posteriormente fue tamizada con una malla cuadrada marca Tyler no. 40-425µm, mezcladas en porcentajes 50-50%, y almacenada en bolsas oscuras y herméticas para su posterior mezcla con harina de maíz para la producción de la botana, parte de esta metodología se encuentra representada en la Figura 3, (Ramos, 2014).

5.3 Elaboración de la botana horneada

Las harinas fueron mezcladas en una proporción de 50% harina de *Oxalis tuberosa* con un 50% de harina de *Zea mays*, incrementando la humedad de la harina mezclada mediante la adición de agua, hasta lograr un 30% de humedad, para proceder a aplicarle el tratamiento térmico mediante el uso un horno Maca América, Modelo KitchenAid a 120°C durante 15 min siguiendo la metodología planteada por Da Rosa y Guerra (2011).

5.4 Análisis químico proximal (Harina, botana horneada, comercial y heces)

Los análisis proximales fueron realizados tanto en la harina de *Oxalis tuberosa* y *Zea mays*, así como de la botana elaborada por horneado y de las heces recolectadas de los tres grupos de experimentación animal a lo largo del periodo de experimentación.

Los análisis realizados fueron humedad y sólidos totales mediante el método AOAC 925.10, el contenido lipídico fue analizado mediante el método AOAC 920.39c, también se midió el contenido total de nitrógeno, para poder realizar la conversión a contenido total de proteína mediante el método AOAC 992.23, se revisó el contenido de cenizas, mediante el método AOAC 923.03 y por último se determinó el contenido de fibra cruda mediante el método AOAC 962.09 (AOAC, 2000).



Figura 3. Proceso para la obtención de harina de *Oxalis tuberosa*.

5.5 Determinación del almidón total

Cuando un producto almidonoso es sometido a un tratamiento térmico, donde además implica la adición o incremento de humedad, la estructura y las propiedades del almidón cambian, y específicamente los almidones de los tubérculos son más susceptibles que almidones de otros productos, como legumbres y cereales (Gunaratne y Hoover, 2002). La cuantificación de almidón total fue realizada siguiendo el procedimiento planteado por McCleary y Monaghan (2002), mediante el uso de un kit enzimático de la marca Megazime, las muestras fueron molidas a un tamaño no mayor de 0.5mm, se pesaron 100mg (su equivalente en peso seco) y agregadas a tubos de ensayo, las muestras fueron lavadas con 0.2mL de etanol al 80% v/v y se agitaron para dispersar toda la muestra, posteriormente a la mezcla se le adicionaron 2mL de Hidróxido de potasio y fueron homogenizadas usando un agitador magnético manteniendo una baja temperatura del medio con la ayuda de bloques de hielo, 8mL de acetato de sodio al 1.2M con un pH de 3.8 fueron agregados en cada tubo, posteriormente todas las muestras fueron adicionadas con la enzima alfa-amilasa y 0.1mL de AMG, todo el conjunto de sustancias fueron mezcladas hasta que quedaran homogéneas y fueron incubadas en un baño María a 50°C durante 30 min agitando constantemente. La muestra obtenida fue diluida con 100mL de agua destilada y centrifugada 1800g por 10 min, 0.1mL de la muestra diluida centrifugada fue introducida en tubos de vidrio adicionando 3mL con GODPOD, para i ser incubados a 50°C durante 20 min, una vez finalizado dicho proceso, se le agregaron 0.1mL de D-glucosa como control así como 3mL de GODPOD y un blanco con 0.1mL de agua; todas las muestras fueron leídas a una absorbancia de 510nm contra un blanco y una muestra control en un espectrofotómetro Marca Shimadazu, Modelo UV-160 (McCleary y Monaghan, 2002).

5.6 Determinación de almidón resistente

El almidón resistente fue evaluado mediante el método 2002.02 de la AOAC (2000) y Goñi (1996), 100mg de muestra fueron pesados directamente en un tubo con tapa, se le adicionaron 4mL de alfa-amilasa pancreática (10mg/mL), y se mantuvo en incubación a 37°C con agitación horizontal y movimiento constante durante 16 h continuas, una vez finalizadas las 16 h 4mL de alcohol etílico al 99% v/v fueron adicionados al tubo, y centrifugados a 1500g durante 10 min, posteriormente el sobrenadante fue decantado y el soluto re-suspendido en 2mL de etanol al 50% y centrifugado a 1500g durante 10 min por dos ocasiones, el sobrenadante fue decantado nuevamente y 2mL de hidróxido de potasio 2 M fueron agregados a cada tubo homogenizando con un agitador magnético durante 20 min, posteriormente 8 mL de acetato de sodio 1.2 M fueron adicionados a todas las muestras incluyendo el control y enseguida 0.1 mL de AMG fueron adicionados para incubar durante 30 min a 50°C con agitación intermitente, el contenido de los tubos fue transferido a un matraz volumétrico de 100 mL y aforado a esa cantidad con agua destilada, posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 1500 g durante 10 min, después de lo cual, a una alícuota de 0.1 mL le fueron agregados 3 mL de GOPOD para realizar una incubación a 50°C durante 20 min, por último la absorbancia de cada muestra fue medida a 510 nm comparando contra el blanco y el control (AOAC, 2000).

5.7 Determinación de antioxidantes

Para la determinación de antioxidantes en la botana diversas pruebas fueron realizadas, a saber: el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu, y la actividad antioxidante mediante el uso de los radicales ABTS y DPPH.

5.7.1 Determinación de fenoles totales

Para determinar el contenido de fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu, primero fue realizado un procedimiento para obtener un extracto obtenido de la harina 50-50, la botana horneada y la botana comercial, usando una solución acuosa de

metanol al 50 %, seguido de una solución acuosa de acetona al 70 %, posteriormente se mezcló de manera homogénea 0.5 mL del extracto con 0.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, durante 3 min, posteriormente una solución acuosa de carbonato de sodio 20 % fue adicionada a la mezcla homogénea. Una vez obtenidos los extractos, 1.5 mL de dicho extracto fue agregado en tubos de ensayo y 6.5 mL de agua destilada junto con 0.5 mL del reactivo Folin-Ciocalteau esta nueva mezcla fue agitada hasta conseguir una mezcla homogenizada, el volumen de dicha mezcla fue aforada a 25 mL con agua destilada, estas muestras fueron mantenidas en reposo durante 2 h a temperatura ambiente y transcurrido este tiempo, la reacción resultante se ejemplifica gráficamente en la Fig. 4, para finalizar, las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro Marca Optima, Modelo SP-3000 nano, a una absorbancia de 765 nm, con previa elaboración de una curva de calibración con ácido gálico en 50 % v/v de metanol, donde los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico /100 g de muestra seca (Vasco, *et al.*, 2008; Floegel, *et al.*, 2011).

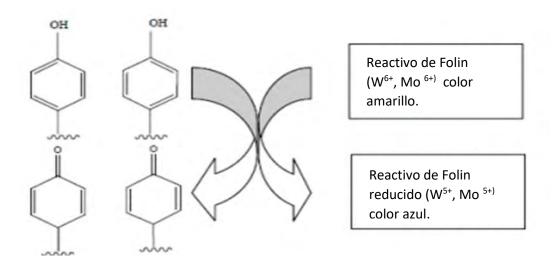


Figura 4. Reacción Folin-Ciocalteu.

5.7.2 Determinación de la actividad antioxidante por ABTS (% de inhibición)

Para la determinar la actividad antioxidante de las botanas y el alimento del bioterio mediante la inhibición del radical ABTS, fue mezclado el ABTS, (2,29-azinobis- 3-etillbenzothiazolina-6-ácido sulfónico) a una concentración 7 M con 2.45 mL de persulfato de potasio, manteniendo dicha muestra bajo agitación constante y en completa oscuridad durante 16 h. Una vez generada la completa oxidación del ABTS pasadas, mínimo 6 h, la solución de ABTS se diluyó con etanol, a un pH 7.4 y con una absorbancia de 734 nm equilibrado a 30°C, posteriormente dicha solución, fue mezclada con el extracto de la botana, dejando reaccionar durante 1 min y midiendo en el espectrofotómetro Marca Optima, Modelo SP-3000 nano, a 734 nm, la reacción y el cambio de color que ocurren una vez que se inhibe el radical son ejemplificados en la Fig.5, por último la curva de absorbancia obtenida fue comparada contra la curva generada con Trolox (20-200 µmol/L), expresando porcentaje de inhibición, según el porcentaje de radical inhibido (Re, et al., 1999; Salluca, et al., 2008).

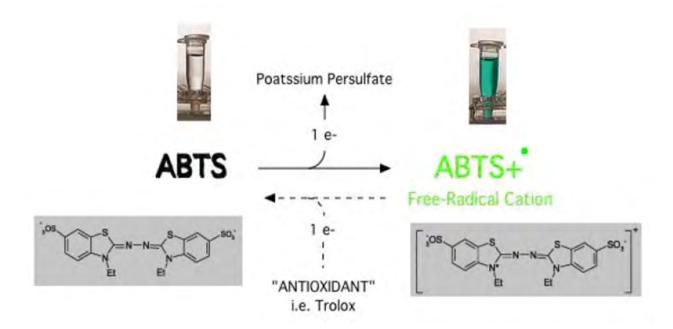


Figura 5. Reacción de inhibición del radical ABTS.

5.7.3 Determinación de la actividad antioxidante por DPPH (% de inhibición EC₅₀)

La actividad antioxidante mediante la inhibición del radical DPPH, fue determinada siguiendo el método descrito por Williams, *et al.*, (1995), utilizando una solución metanólica del radical 2-2difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) el cual fue agregado directamente a una solución de 10 mL con diferentes concentraciones del extracto para poder medir su actividad a diferentes concentraciones. De este modo, la absorbancia fue medida con ayuda de un espectrofotómetro Marca Optima, Modelo SP-3000 nano, a 515 nm cada 10 min durante 1 h, con la intención de verificar la inhibición gradual según el tiempo de exposición con la botana, el grado de decoloración que presentó cada solución indicó la eficiencia de la sustancia agregada como antioxidante, lo que fue expresado como porcentaje de inhibición para las diferentes concentraciones, y como dato complementario se midió el IC₅₀ que es la cantidad de antioxidante o del alimento necesaria para disminuir la concentración inicial del radical DPPH en un 50 %, lo que se expresó en mol/L (Jiménez y Sammán, 2014).

5.8 Animales y su alimentación (Alimento de mantenimiento, Botana de Maíz, Botana horneada de *Oxalis tuberosa*)

El experimento fue realizado con 24 ratas albino hembras linaje Wistar, uno de los ejemplares, es mostrado en la Fig. 7. Estuvieron divididas en 3 grupos de 8 ratas cada uno: Control, Botana de maíz, Botana horneada de *Oxalis tuberosa*, la asignación del grupo fue realizada agrupando ratas con pesos similares en un mismo grupo con las menores variaciones posibles, el consumo de alimentos y agua fue *ad libitum*, manteniendo estándares de temperatura y humedad constantes en sus cuartos de hacinamiento, controlando además los ciclos de luz con 12h de luz y 12h de oscuridad, la ingesta diaria de alimento, cantidad de heces excretadas, el peso ganado por cada rata cada dos días, así como su nivel de glucosa semanalmente y triglicéridos en sangre cada mes, fueron documentados.



Figura 6. Ejemplar de rata Wistar utilizada en este proceso de experimentación

5.9 Análisis sanguíneo

Las muestras de sangre fueron tomadas mediante punción en la cola del animal con una lanceta comercial, una vez obtenida la sangre, esta fue colocada en un glucómetro marca Bayer modelo Contour TS y en un equipo para medir triglicéridos marca Roche modelo Accutrend Plus, los cuales arrojaron los resultados de glucosa y triglicéridos en sangre con unidades de mg/dL,ambos equipos son mostrados en la Fig. 7, dichas pruebas fueron realizadas semanalmente en todos los animales de estudio de los tres grupos.

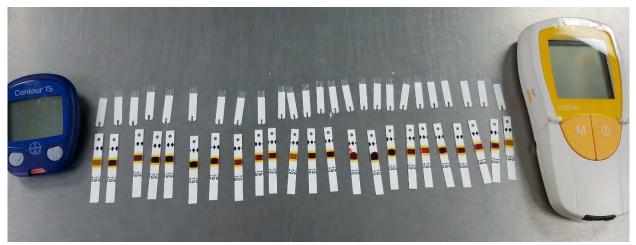


Figura 7. Equipos y tiras reactivas usadas para la medición de glucosa y triglicéridos. 27

5.10 Ensayos biológicos de crecimiento

Las ratas fueron pesadas diariamente, así como el alimento consumido y la cantidad de heces fecales excretadas, con lo que se calcularon los parámetros de eficiencia alimenticia, el coeficiente alimentario, la ganancia diaria de peso y el porcentaje de digestibilidad aparente, fueron determinadas mediante las siguientes formulas:

Eficiencia alimenticia =
$$\frac{\text{Gramos de peso ganado}}{\text{Gramos de alimento consumido}}$$

$$\label{eq:coefficiente} \text{Coeficiente alimentario} = \frac{\text{Gramos de alimento consumido}}{\text{Gramos de peso ganado}}$$

% Digestibilidad =
$$\frac{Alimento\ consumio-heces}{Heces}$$

(Nouri, et al., 2015; Jiménez y Sammán, 2014)

5.11 Técnica histológica

Los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical, dicho proceso en todo momento fue asesorado y supervisado por el Comité de Ética del Bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Después del sacrificio, a cada rata le fue realizada una biopsia de hígado, intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), riñón y páncreas, cada órgano fue lavado perfectamente con abundante agua de manera rápida para evitar degradación o autolisis de los órganos, poniendo especial atención en el intestino delgado debido a la naturaleza microbiana de su interior, una vez lavados todos los órganos sin sangre ni ningún otro tipo de contaminante, fueron colocados en

formaldehido al 3.8% amortiguando con fosfatos para su fijación y transporte hacia el Laboratorio de Histología e Histopatología del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicada en el Instituto de Ciencias Agropecuarias.

Una vez fijados todos los órganos, manualmente fueron seccionados con un bisturí quirúrgico y colocados en histocassettes, para posteriormente llevar a cabo su lavado, deshidratación, aclaramiento e infiltración en parafina, mediante un procesador automatizado de tejidos marca Microm modelo TP1020 (Fig. 8). Los órganos fueron deshidratados con el uso de alcoholes a diferentes concentraciones, para que una vez deshidratados pueda realizarse el aclarado con xilenos y finalmente la parafinización, que consiste en saturar el órgano con parafina, mediante el uso de parafina líquida, para que los órganos puedan cortarse en el micrótomo y así observarlos al microscopio.



Figura 8. Procesador automatizado de tejidos, marca Microm modelo TP1020.

Posteriormente los órganos saturados fueron incluidos en parafina a aproximadamente 60°C en bloques metálicos, con la intención de generar un bloque sólido de parafina que después pudiera ser colocado en el micrótomo para su corte. Cabe mencionar que cada

bloque fue correctamente identificado y señalado con un nombre clave para no cometer ninguna confusión entre su respectivo tratamiento. Ya con el bloque de parafina listo, fueron realizados cortes de 4-5 µm de grosor, con la ayuda de un micrótomo marca Leica modelo RM125RT9 (Fig.9), obteniendo como mínimo 4 cortes representativos de cada órgano de todos los animales de experimentación.



Figura 9. Microtomo marca Leica, modelo RM125RT99

Los cortes obtenidos fueron colocados en un portaobjetos, con la utilización de una solución al 50% alcohol y un baño de flotación de tejidos marca Premiere (Figura 10) con agua destilada a 35-39°C y grenetina con la intención de que el corte quede estirado y sin pliegues en el órgano cortado, además de facilitar la colocación del órgano en el portaobjetos, el cual fue colocado en una estufa de secado a 60°C durante 5 min para que el corte quedara perfectamente adherido en el portaobjetos.



Figura 10. Baño de flotación de tejidos marca Premiere, modelo XH-1001.

Los cortes obtenidos fueron teñidos mediante la técnica Hematoxilina-Eosina (H-E) bajo el procedimiento del llamado "Tren de tinción" que consta de la inmersión de los portaobjetos con los cortes en diversos alcoholes a diferentes concentraciones desde 95% hasta 70%, posteriormente en agua destilada, para después aplicar la Hematoxilina, un colorante básico que tiñe de azul o morado las estructuras ácidas como los componentes nucleares y la Eosina, un colorante ácido que tiñe de rosa los componentes citoplasmáticos y algunos compuestos estructurales como el colágeno y los músculos. Para finalizar, los cortes ya teñidos se montaron de forma permanente sobre el portaobjetos adicionando resina y un cubreobjetos sobre el corte para así poder manipular el portaobjetos y observarlo bajo el microscopio, los cortes histológicos fueron observados y analizados a un aumento de 400x, con un microscopio compuesto de campo claro marca Olympus, modelo BX41, las imágenes fueron capturadas y con una cámara digital Media Cybernetics, Modelo Evolution VF, y digitalizadas con el software Image-Pro Express 6.0.

6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron bajo un diseño completamente al azar utilizando un análisis de varianza y cuando existieron diferencias significativas fue realizada una prueba de comparación de medias de Tukey (p<0.05), para ello fue empleado el paquete estadístico Statgraphics Centurion versión XVII.

7 HIPÓTESIS

La ingesta de una botana de *Oxalis tuberosa* será segura para el consumo, sin generar daños en órganos ni modificaciones negativas sobre los parámetros de salud del consumidor, además de mantener índices glucémicos y de triglicéridos normales a través del tiempo.

8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Análisis químicos proximales de la mezcla de harinas, botana comercial y botana horneada.

El análisis químico proximal de la mezcla de harinas, la botana horneada y comercial suministradas a los animales de experimentación es mostrado en la Tabla 4. El contenido de proteína indica diferencias significativas entre las tres muestras, siendo el menor contenido el de la botana horneada con 5.46±.22, dicha disminución puede atribuirse al tratamiento térmico el cual ocasiona la desnaturalización de las proteínas y reordenamiento de las fracciones de nitrógeno con otros compuestos, generando así la disminución de su porcentaje, con respecto a la botana comercial, ésta tuvo el mayor porcentaje de proteína de las tres muestras, dicho porcentaje fue revisado con la información nutrimental del fabricante, la cual indica que además de los cereales incluidos en su fabricación adicionada proteína texturizada de soya con lo cual se justifica la diferencia significativa del porcentaje de proteína en comparación con las otras dos.

No existió ninguna diferencia significativa en el contenido de lípidos de las tres muestras, debido a que se requieren temperaturas mayores para lograr una alteración, o disminución de los lípidos contenidos en los alimentos.

En cuanto al contenido de fibra se observa que no hubo diferencias significativas entre botana de Oxalis tuberosa y la comercial, sin embargo dicho resultado podría ser no solamente fibra sino algunos otros compuestos no digeribles, que no necesariamente influyen en la función benéfica que generara la fibra, sin embargo en este resultado también se puede observar un incremento en el porcentaje de fibra una vez realizado el tratamiento térmico, es decir, en comparación con la harina, donde existieron diferencias significativas entre ellos, atribuido a la adición y remoción de agua, logrando un reordenamiento estructural. Hsu, et al., (2003), evaluaron la producción de harina de yam mediante diversos tratamientos térmicos, entre ellos la utilización de aire caliente mediante el uso de un horno, como en el caso de la elaboración de la botana de Oxalis, y concluyeron que este último método de secado es el menos agresivo ya que no genera cambios muy marcados en los componentes de las harinas generadas, a excepción de algunos cambios en el color y la actividad antioxidante. Existió un leve incremento numérico en el porcentaje de cenizas, pero sin diferencias significativas entre la botana horneada y la harina, dicho resultado está relacionado con la adición de agua corriente purificada previo al tratamiento térmico con el cual su humedad incrementó, pero además fueron adicionados a la mezcla, minerales contenidos en el agua purificada. Con respecto al contenido de carbohidratos, existen diferencias significativas entre las tres muestras, siendo la que contiene mayor porcentaje de carbohidratos la botana comercial, ya que, según la etiqueta de producción del fabricante, dicho producto fue adicionada con una cantidad considerable de almidón con la intención de mejorar su textura y estandarizar su proceso. Una ligera disminución es mostrada en el porcentaje de los carbohidratos contenidos en la botana horneada en comparación con la harina, dicho comportamiento puede estar relacionado con la formación de enlaces almidónproteína o almidón-lípidos, así como el incremento de fibra que podría ser el reflejo del almidón resistente (Martínez, et al., 2016).

Tabla 4. Análisis proximal de harina y botanas procesadas.

Muestra	Proteína	Lípidos	Fibra	Cenizas	Humedad	Carbohidratos
Harina	6.04±.09 ^a	4.04±.02 ^a	2.18±.02 ^a	3.01±.21 ^a	8.89±.78 ^a	74.91±.54 ^a
Botana horneada	5.46±.22 ^b	4.13±.59 ^a	3.08±.18 ^b	3.22±.11ª	9.03±.62ª	73.03±.38 ^b
Botana comercial	6.35±.13 ^c	3.76±.19 ^a	3.12±.20 ^b	2.60±.23 ^{ab}	6.57±.20 ^b	77.86 ±.35°

[±] Desviación Estándar

8.2 Contenido de almidón total y almidón resistente

En la tabla 5 se observa que después de realizar el tratamiento térmico en la harina cruda, el porcentaje de almidón total, así como el de almidón resistente disminuyeron 2.156% y 1.769% respectivamente; el contenido de almidón total como el de almidón resistente en las muestras utilizadas para la alimentación de los animales de experimentación y la muestra de harina previo tratamiento térmico (Harina), es muy notable que un porcentaje elevado de los carbohidratos en las muestras son almidón, lo que da la obligación de revisar los cambios en el contenido de este carbohidrato especifico, además por la importancia que tiene este producto en el proceso digestivo así como sus implicaciones en la salud del consumidor. Dicha disminución en el contenido total de almidón, así como de almidón resistente, es ocasionado debido a los reordenamientos que sufre el almidón durante el tratamiento térmico, ya que nuevas interacciones comienzan a generarse entre los componentes del almidón con otros componentes de la matriz alimenticia, por ejemplo: amilosa-lípidos, amilosa-proteína, e incluso amilosa-amilosa, lo que genera que el almidón sea susceptible a solubilizarse en el agua o a sufrir la acción de enzimas que disminuyen el contenido de almidón en el producto final, otro de los motivos de dicha disminución es atribuido a la adición de agua y su posterior calentamiento, ya que está demostrado que el agua crea enlaces de hidrogeno entre las cadenas de almidón y al aplicar temperaturas elevadas dichos enlaces se rompen generando la separación total

a,b,c Diferencias significativas (p<0.05)

o parcial de algunos gránulos de almidón propiciando así su disminución (Lai, 2001; Li, et al., 2001). Otro posible motivo de la disminución de almidón total, es cuando la harina es sometida a temperaturas elevadas durante la preparación, algunos gránulos de almidón pueden presentar daño físico, lo que modifica la estructura cristalina del granulo dejándolo "abierto" y susceptible a la acción de enzimas capaces de degradarlo (Uthumporn, et al., 2010). El tamaño del granulo de almidón también tiene implicaciones de que éste sea más o menos digestible ya que, la superficie de contacto es un punto de referencia sobre la facilidad de acción de las enzimas sobre este, ya que un granulo de almidón pequeño tiene una mayor área de superficie lo que lo hace más propenso a la digestión enzimática (Ahmed y Urooj, 2008).

Cabe mencionar que además del proceso térmico o de preparación aplicado sobre los tubérculos como la *Oxalis tuberosa*, es necesario tener en cuenta que cada tipo de tubérculo mostrará diferentes resultados, en cuanto a la modificación de sus almidones después de un determinado tratamiento, ya que como sucedió con el experimento de Ahmed y Urooj, (2008), donde cuatro de sus muestras mostraron un incremento en el contenido de almidón resistente, mientras que en los otros dos no hubo cambios significativos, y uno de ellos tuvo una ligera diminución a lo que los autores mencionan que dicho suceso es un indicador de que existió una redistribución de las fracciones de almidón y que no es la misma en todos los tubérculos, a pesar de ser el mismo tratamiento térmico ya que también dependen de las propiedades físicas y morfológicas de cada tubérculo y su respectivo almidón.

Tabla 5. Contenido de almidón total y almidón resistente.

	Almidón total	Almidón resistente
Harina	66.987 %	11.754 %
Botana comercial	72.978 %	4.444 %
Botana de <i>Oxalis tuberosa</i>	64.831 %	9.985 %
Alimento del bioterio	48.909 %	5.248 %

[±] Desviación Estándar

a,b,c Diferencias significativas (p<0.05)

8.3 Contenido total de polifenoles

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos de la determinación del contenido total de polifenoles donde es posible observar la existencia de diferencias significativas entre la harina utilizada y la botana de Oxalis tuberosa, así como con la comercial. Cabe mencionar que, a pesar del tratamiento térmico realizado sobre la harina, la diferencia del contenido de polifenoles totales antes y después de dicho tratamiento es muy pequeña, es decir el proceso de horneado no afectó gravemente el contenido de producto final, disminuyendo solamente en un antioxidantes del Dicha disminución, concuerda con lo publicado por Sharma, et al. (2012) quienes reportan una disminución del contenido total de polifenoles al evaluar la capacidad antioxidante de un producto de cebada extrudido, atribuyendo dicha disminución a la descomposición de los compuestos fenólicos, causada por la elevada temperatura con la que fue tratado, generando cambios moleculares en la estructura de los compuestos polifenólicos disminuyendo su reactividad y haciéndolos menos extraíbles. Los polifenoles son solubles en agua y además susceptibles a degradación durante el procesamiento térmico, lo que explica el decremento existente entre la harina y el producto horneada (Nems, et al., 2015).

Tabla 6. Contenido total de polifenoles.

Tratamiento	mg GAE/g muestra seca
Harina	2.68±0.072 ^a
Botana horneada	2.38±0.016 ^b
Botana comercial	0.045±0.001°

±Desviación Estándar

a,b,c Diferencias significativas (p<0.05)

El contenido total de polifenoles en la botana comercial fue muy bajo por lo que es considerado como nulo, por tal motivo la prueba de ABTS y DPPH no fue realizada en dicha muestra, ya que el resultado de esta prueba es definido como la variable de referencia.

8.4 Actividad antioxidante

En la actividad antioxidante de las muestras, al ser la botana comercial un producto con un contenido despreciable de polifenoles totales, no es considerado como necesario realizar la prueba de inhibición del radical DPPH y tampoco de ABTS.

8.4.1 ABTS

Esta prueba indica el porcentaje de radical ABTS que la mezcla cruda y la botana de *Oxalis tuberosa* son capaces de inhibir, los resultados son mostrados en la tabla 7, estos no mostraron diferencias significativas, aunque si mostraron un ligero incremento numérico, con lo se puede decir que el tratamiento térmico ejercido sobre la harina para la producción de la botana es definido como poco agresivo sobre sus antioxidantes que inhiben el radical ABTS contenidos en la botana y que además, debido a la reacción de Maillard producida por el tratamiento térmico, nuevos compuestos antioxidantes pudieron haber sido generados, con lo que, el porcentaje de inhibición mostrado fue estable y sin diferencias significativas entre la harina cruda y la botana horneada (Nayak, *et al.*, 2011).

Tabla 7. Porcentaje de inhibición del radical ABTS.

	Harina	Botana horneada	Botana comercial
% de inhibición	52.01±2.11 ^a	53.76±1.85 ^a	-

[±] Desviación Estándar

a,b,c Diferencias significativas (p<0.05)

8.4.2 DPPH (Concentración mínima inhibitoria)

En la Fig. 11 es mostrado el porcentaje de inhibición obtenido del barrido general de las muestras, así como la concentración mínima necesaria para lograr el 50% de inhibición del radical DPPH, de la harina y la botana de *O. tuberosa*. Después de 60 min de exposición al radical, con la harina cruda se logró el mayor porcentaje de inhibición, aunque es necesario tener en cuenta que la concentración mínima necesaria fue mayor en comparación con la concentración mínima necesaria de la botana horneada, es decir fue requerida más muestra de harina cruda que de botana horneada para lograr el mismo porcentaje de inhibición del radical DPPH. Después de una hora de exposición del radical, a los extractos de las muestras, la mezcla cruda obtuvo el mayor porcentaje de inhibición en comparación con la botana horneada, obteniéndose una diferencia del 19.14% entre ambas, tomando como total, el máximo porcentaje de inhibición alcanzado.



Figura 11. Curva de inhibición EC₅₀ después de 60 min de exposición.

Es posible que dicha diferencia sea resultado de una mezcla de factores y no a uno solo, como lo es el tiempo de exposición a altas temperaturas, el reordenamiento de los componentes de la matriz alimentaria que a su vez conlleva a la formación de nuevos compuestos en los cuales fracciones de antioxidantes pueden unirse a otros compuestos de la botana dejándolos inactivos para reaccionar con los radicales libres (Hirt, *et al.,* 2014), por otra parte, las interacciones moleculares dentro de la matriz alimentaria pueden verse afectadas, disminuyendo la capacidad de retención de antioxidantes (Nayak, *et al.,* 2011).

8.5 Experimentación animal

8.5.1 Dietas suministradas

La conformación de las dietas suministradas a cada grupo de experimentación son mostradas en la Tabla 8, y la composición nutrimental de dichas dietas en la tabla 9, donde es posible observar que entre las tres dietas existen diferencias significativas, especialmente en comparación con el grupo 1 donde todos los parámetros tienen diferencias significativas a excepción del contenido de fibra el cual no mostró diferencias significativas en ninguno de los tres grupos, al comparar el grupo 2 y contra el grupo 3 se visualiza que solo existen diferencias significativas en el contenido de humedad y de carbohidratos, que a pesar de ser contenidos generales muy similares, en la evaluación *in vivo*, donde existieron diferencias significativas en parámetros muy importantes como lo es el contenido de glucosa y triglicéridos en sangre, dejando con mejores prospectos de funcionalidad a la botana de *Oxalis tuberosa*.

Tabla 8. Dietas suministradas a cada grupo de experimentación.

GRUPOS	DIETA				
Grupo 1 (Control)	100% Alimento de mantenimiento (Alimento del				
	bioterio para animales de experimentación)				
Grupo 2 (Botana Comercial)	75% Alimento de mantenimiento + 25 % Botana				
	comercial.				
Grupo 3 (Botana de <i>Oxali</i> s	75% Alimento de mantenimiento + 25 % Botana				
tuberosa)	horneada de <i>Oxalis tuberosa.</i>				

Tabla 9. Información nutrimental de las dietas suministradas a los animales de experimentación.

	Grupo 1 (Control)	Grupo 2 (Botana comercial)	Grupo 3 (Botana de <i>Oxalis</i> <i>tuberosa</i>)
Proteína (%)	23.0±0.23 ^a	18.84±0.05 ^b	18.62±0.03 ^b
Fibra %	4.0±0.32 ^a	3.77±0.04 ^a	3.78±0.05 ^a
Humedad (%)	12.0±0.28 ^a	10.64±0.05 ^b	11.51±0.15 ^c
Cenizas (%)	8.0±0.03 ^a	6.72±0.78 ^b	6.80±0.03 ^b
Lípidos (%)	6.5±0.03 ^a	5.82±0.04 ^b	5.91±0.15 b
Carbohidratos (%)	46.5±0.3 ^a	54.34±0.10 ^b	53.13±0.09°

[±] Desviación Estándar

^{a,b,c} Diferencias significativas(p<0.05)

8.5.2 Parámetros de crecimiento

Los parámetros de crecimiento y la eficiencia alimentaria a lo largo del experimento son mostrados en la tabla 10, donde es posible observar que ninguno de los 4 parámetros medidos presentaron diferencias significativas, a excepción del porcentaje de digestibilidad aparente donde el grupo alimentado con la botana comercial y la botana horneada, tampoco mostraron diferencias significativas entre ellas, pero si con el control, lo que significa que el grupo 2 y el grupo 3 aprovecharon y/o absorbieron la misma cantidad de nutrientes, aunque estos se comportaron de manera diferente en el cuerpo del consumidor, lo que resulta de mucho interés ya que nos indican que a pesar de haber ingerido cantidades de alimento muy similares con una eficiencia de absorción sin diferencias significativas, los resultados in vivo, mostraron varias diferencias significativas atribuidas a la composición nutrimental y fisicoquímica de la botana adicionada a cada dieta, dichos resultados coinciden con lo mostrado por Nouri, et al. (2015) donde tres de sus cuatro grupos se mantienen sin diferencia significativa en los parámetros medidos, a excepción de la digestibilidad donde hay diferencias significativas entre dos de los cuatro grupos de ratas utilizados por los autores, atribuido al contenido de fibra. Jiménez, et al., (2015) evaluaron la ganancia de peso, la ingesta de alimento y la eficiencia alimentaria sin encontrar diferencias significativas en el consumo de alimento, pero si en el peso ganado por los animales de experimentación, Jiménez, et al., (2015) radican de la opinión de otros autores que relacionan directamente a cantidad consumida con la ganancia de peso y le atribuyen dichas diferencias de peso a los componentes dietéticos de cada alimento suministrado a cada grupo y no a la cantidad ingerida. En cuanto al porcentaje de digestibilidad aparente, el grupo que mostró el menor porcentaje de digestibilidad mostrando diferencias significativas con los dos grupos restantes fue el grupo 1 es decir el grupo alimentado solamente con alimento de manutención para animales de bioterio, mostrando 4 % menos de digestibilidad en comparación con los grupos 2 y 3 los cuales no tuvieron diferencias significativas, lo que puede expresarse como que las ratas del grupo uno aprovechan menos los alimentos, dichos resultados de digestibilidad son la relación entre el alimento consumido y las heces excretadas, aunado a eso, Falcon, et al., (2006), evaluaron diversas matrices alimentarias logrando porcentajes de 78.73-84.89%, donde el menor porcentaje, fue el obtenido para el consumo de cereales crudos sin ningún tratamiento y el mayor para caseína pura, lo que indica que mientras más compleja sea la composición del alimento, los nutrientes estarán menos disponibles y/o será más complicada acceder a ellos, y por ende su absorción, generando así una disminución en el llamado porcentaje de digestibilidad, es decir que al adicionar las botanas a la dieta, fue introducido una alimento altamente digerible, lo cual puede explicarse bajo el entendido de que ambas botanas adicionadas pasaron por diversos tratamientos térmicos lo que hizo a dichos alimentos más susceptibles de ser digeridos por los procesos digestivos y absorbidas por el intestino. Cabe mencionar que el tratamiento térmico aplicado durante el horneado es el posible causante por el cual sucede el incremento de digestibilidad aparente en la botana de *Oxalis tuberosa*, ya que incrementa la disponibilidad de los nutrientes volviéndolos menos complejos y por ende más accesibles al igual que a la botana comercial que se elaboró mediante extrusión, esto coincide con lo reportado por algunos autores que han mencionado, que realizar un tratamiento térmico o de cocinado a papas da como resultado un incremento de 75-90% en su digestibilidad (Ahmed & Urooj, 2008).

Tabla 10. Parámetros de crecimiento y eficiencia alimentaria.

Parámetros de crecimiento	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Consumo diario de alimento (g)	14.85±0.82ª	14.04±0.56ª	14.33±0.54ª
Eficiencia alimenticia	0.081±0.01 ^a	0.088±0.00ª	0.083±0.00 ^a
Coeficiente alimentario	12.49±1.78ª	10.36±0.83 ^b	12.13±0.93ª
Digestibilidad aparente	81.20±1.43ª	85.07±1.23 ^b	85.01±1.63 ^b

[±] Desviación Estándar

^{a,b,c} Diferencias significativas (p<0.05)

8.5.3 Ganancia de peso

En la Tabla 11, es posible observar gráficamente el peso de las ratas al inicio del experimento donde no mostraron diferencias significativas entre ellos, ya que eso, fue el parámetro para la agrupación de los animales de experimentación para que los pesos fueran lo más homogéneos posible.

El peso de las ratas de los tres grupos de experimentación permaneció sin diferencias significativas hasta la semana 6 donde el grupo 1 y el grupo 2, no tuvieron diferencias entre ellos, pero el grupo alimentado con la botana horneada comenzó a mostrar un peso menor en comparación con los otros dos, lo que indicó una mejor absorción de nutrientes, así como el efecto de los carbohidratos consumidos en la dieta. En la semana 7 el grupo dos tuvo un incremento de peso, despegándose estadísticamente de los otros dos grupos, los cuales no mostraron diferencias significativas entre ellos, al final del experimento, es decir, al final del mes 2, el grupo que mostró a menor ganancia de peso fue el alimentado con la botana horneada de Oxalis tuberosa, lo que es atribuido al consumo de más fibra, y de almidón resistente, es decir carbohidratos no digestibles en el intestino y por ende no absorbidos, ya que es excretado en las heces, evitando así la acumulación de energía en el cuerpo y generando una menor ganancia de peso entre otros beneficios a la salud. Otro dato que resalta es que a pesar de que el contenido calórico de la dieta del grupo 1 es menor que el del grupo 3, los animales de dicho grupo terminaron con mayor peso que el 3, lo que puede atribuirse al contenido de almidón resistente ya que como lo menciona Cumminhgs y Stephen, (2007), a pesar de ser carbohidratos, estos no son digeridos por el intestino humano y por ende son excretan en el bolo fecal. En el grupo tres es posible observar un incremento progresivo similar en la ganancia de peso corporal de las ratas y luego una disminución en comparación con el control, lo que indicaría la posibilidad de que la dieta tuvo un efecto saludable en el óptimo crecimiento de las ratas (Arueya y Osundahunsi, 2014).

Tabla 11. Ganancia de peso vivo a través del tiempo (g).

Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8
Grupo 1 (Control)	181.38±6.90 ^a	202.67±2.64 ^a	210.58±3.08 ^a	212.5±3.07 ^a	217.67±0.69 ^a	224.57±0.64 ^a	225.13±0.75 ^a	230.38±2.01 ^a
Grupo 2 (Botana comercial)	180.83±7.69 ^a	199.83±2.93 ^a	209.167±2.89 ^a	214.83±1.01 ^a	219.50±1.15 ^a	223.51±0.63 ^{ab}	228.58±1.13 ^b	232.57±1.36 ^b
Grupo 3 (Botana de <i>Oxalis</i> <i>tuberosa</i>)	179.90±6.84ª	201.04±2.96 ^a	209.083±3.35 ^a	214.43±2.13 ^a	217.13±1.11ª	222.09±1.01 ^b	223.63±0.87ª	226.35±1.65 ^a

[±] Desviación Estándar

^{a,b,c} Diferencias significativas (p<0.05)

8.5.4 Análisis químico proximal en heces

En la tabla 12, son visualizados todos los resultados de los análisis químico proximales realizados a las heces fecales recolectadas a lo largo del experimento. El primer análisis químico proximal (mes 0) fue realizado al inicio del experimento, es decir, una vez concluido el periodo de climatización de 15 días, donde es posible observar que los parámetros (Proteína, lípidos, fibra, cenizas, humedad y carbohidratos) estuvieron sin diferencias significativas, lo cual era esperado, ya que nos indica que todos los animales de experimentación consumieron exclusivamente el alimento del bioterio y que todos estaban bajo las mimas condiciones.

El contenido de proteína en heces es el único parámetro que no tuvo cambios significativos entre los tres grupos a lo largo de las ocho semanas de tratamiento. Los cambios más notables a lo largo de todo el experimento fueron el contenido de lípidos y fibra en heces, ya que la expulsión de lípidos tanto en el grupo 1 (Control) como el grupo 2 (Botana comercial) disminuyó, lo que significa que dichos lípidos fueron absorbidos en el cuerpo, lo que también coincide para el grupo 2 con los resultados obtenidos en el contenido de triglicéridos en sangre ya que fue ese mismo grupo quien obtuvo los niveles más altos de triglicéridos durante y al finalizar el periodo de experimentación.

Un resultado que está relacionado con el contenido de lípidos en heces fue el contenido de fibra ya que es posible observar que mientras más fibra excreta, más lípidos expulsa, dicho efecto es más notorio en las heces del grupo 3 (*Oxalis tuberosa*) donde el mes 1 y en el dos eliminaron 1.74±0.09% y 2.17±0.26% de lípidos respectivamente, mientras el grupo 2, desechó 0.58±0.02% y 0.50±0.03% siendo 3 veces más lo excretado por el grupo 3 en el mes 1 y hasta 4 veces más los lípidos excretados en el mes 2, dato que también estuvo reflejado en el contenido de triglicéridos en sangre ya que el grupo tres no hubo ninguna diferencia significativa con el grupo control, el consumo de almidón resistente y fibra tiene una efecto benéfico en el proceso de digestión, y contemplando que ninguno de los dos son degradados en el organismo, sino que son excretados o en su caso fermentados en el intestino, eso nos indica que el grupo 3 tuvo una nutrición con un buen contenido de almidón resistente y de fibra, aunque cabe mencionar que una deficiencia en la absorción de nutrientes en el intestino puede ocasionar diversas

enfermedades, pero en algunos casos se busca una reducción de algunos nutrientes como los lípidos, que además son considerados los más vulnerables a sufrir alteraciones durante la absorción (Chiba y Ohi, 1998).

El incremento en la excreción de lípidos es uno de los mecanismos por el cual las fibras solubles y el almidón benefician al organismo ya que las moléculas de lípidos que llegan al intestino para ser absorbidas, son fermentadas junto con el almidón resistente y la fibra, quedando atrapado en sus redes, generando así una transformación microbiana del colesterol, provocando que este no sea absorbido y tenga que ser excretado (Chezem, et al., 1997). Otro mecanismo por el cual el consumo de almidón resistente ayuda a excretar lípidos, evitando así que estos vayan al torrente sanguíneo tapando arterias y generando daños cardiovasculares, es la formación de complejos amilosa-lípidos los cuales son generados en el periodo de interacción de ambos compuestos en el intestino, lo que retarda la digestión en el intestino y por efecto del vaciado gástrico el almidón resistente y los lípidos son expulsados, efecto que puede observarse con los resultados del análisis químico proximal de las heces. En el mes 2 el contenido de humedad de las heces del grupo 3 tuvo un ligero incremento, lo que ocasionó que existieran diferencias significativas con los otros dos grupos durante ese mismo mes, los autores Philip, et al., (1995) mencionan que el incremento de humedad en heces podría significar que estas contienen un porcentaje de almidón resistente, reflejado también con un bajo pH, dicho resultado es asociado con la reducción del riesgo de contraer cáncer de colon y a su vez indica disminución en la absorción de carbohidratos, que ocasiona un incremento en el volumen de excreción de heces, parámetro que en este caso se mantuvo sin diferencias significativas en los tres grupos de experimentación, lo que puede reflejarse en el contenido de glucosa en sangre, resultado visualizado en el grupo 3, el cual fue encontrado sin diferencias significativas en comparación con el control.

Tabla 12. Análisis químico proximal de heces.

M	20	n
IVI	C-3	u

			wes u			
	Proteína %	Lípidos %	Fibra %	Cenizas %	Humedad%	Carbohidratos %
Grupo 1 (Control)	19.94±0.56ª	1.60±0.22ª	19.12±1.54ª	13.36±0.63ª	24.87±0.75 ^a	20.92±2.23ª
Grupo 2 (Botana comercial)	19.20±0.42ª	1.35±0.14ª	18.92±1.08ª	13.79±0.19ª	25.12±0.03ª	22.45±0.65 ^a
Grupo 3 (Botana de Oxalis tuberosa)	20.28±0.69ª	1.28±0.05ª	19.62±1.21ª	13.45±0.20ª	24.53±0.13 ^a	20.33 ±1.42 ^a
			Mes 1			
Grupo 1 (Control)	22.28±1.09 ^a	0.69±0.03 ^a	17.23±0.59ª	14.29±0.51 ^a	22.31±0.29 ^a	21.46±1.77 ^a
Grupo 2 (Botana comercial)	20.92±1.29 ^a	0.58±0.02ª	17.35±0.09 ^a	12.27±0.31 ^b	21.78±0.48 ^a	27.98±1.37 ^b
Grupo 3 (Botana de Oxalis tuberosa)	21.93±0.93 ^a	1.74±0.09 ^b	33.21±1.69 ^b	11.26±0.19 ^b	22.64±0.14 ^a	9.51 ±0.41°
,			Mes 2			
Grupo 1 (Control)	21.16±0.09ª	0.54±0.02 ^a	15.47±0.57ª	15.25±0.08 ^a	24.26±0.08 ^a	23.52±0.83ª
Grupo 2 (Botana comercial)	18.25±0.22ª	0.50±0.03ª	24.87±2.39b	12.97±0.15 ^b	24.25±0.18 ^a	18.17±0.50ª
Grupo 3 (Botana de Oxalis tuberosa)	17.93±0.13ª	2.17±0.26 ^b	35.05±0.46°	11.23±0.06°	25.67±0.03 ^b	7.75 ±0.12 ^b

[±] Desviación Estándar

a,b,c Diferencias significativas (p<0.05)

8.5.5 Contenido de triglicéridos en sangre

En las Figs. 12 y 13 se muestran los resultados obtenidos de la medición de triglicéridos en sangre. Estos datos fueron tomados después de un mes de experimentación y al final del experimento. El grupo 1 mostró el menor contenido de triglicéridos en sangre a lo largo del experimento, en segundo lugar, seguido por el grupo alimentado con la botana horneada, con el mayor contenido de triglicéridos en sangre quedó el grupo 2, es decir, el alimentado con la botana comercial. Existió diferencia significativa del grupo 2 con los grupos 1 y 3, que se mantuvieron sin diferencias significativas en los dos meses del experimento. El resultado obtenido por el grupo dos puede tener una explicación basada en el contenido de carbohidratos de su dieta, ya que es elevado al igual que en el grupo 3, esto es de importancia, ya que ha sido demostrado que los triglicéridos en sangre son producidos en su mayoría, por la alta ingesta de carbohidratos mediante el proceso de la lipogénesis, donde dichos carbohidratos son transformados en energía de reserva, es decir lípidos Montero, et al., (2015), y si bien el contenido de carbohidratos en la dieta es muy similar que en la dieta el grupo 3, en la dieta de este grupo existe cierto contenido de almidón resistente, por lo que no todos los carbohidratos son digeridos en el organismo y por ende hay menor liberación de energía o glucosa al torrente sanguíneo disminuyendo así la formación de lípidos. Esto se puede observar en el trabajo de Lee y Gyu (2016) donde evaluaron tres dietas diferentes, una mayor en contenido de grasa, una con almidón lentamente digestible y otra con almidón resistente, obteniendo el menor contenido de triglicéridos en sangre el grupo alimentado con una dieta rica en almidón resistente.

Cabe resaltar que estos resultados coinciden con los obtenidos en el contenido de grasa en las heces de las ratas ya que, el grupo 2 fue el grupo que excreto menor cantidad de grasa lo que significa que dicha grasa fue absorbida por el animal, lo que es reflejado en los resultados obtenidos y mostrados en la Tabla 12 de los meses 1 y 2 respectivamente.

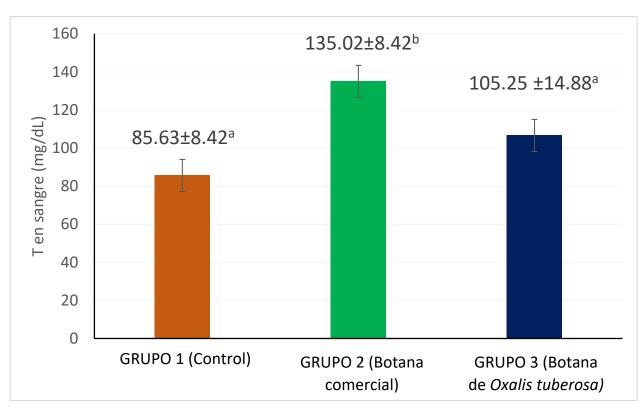


Figura 12. Contenido de triglicéridos en sangre de los tres grupos de experimentación (Mes 1).

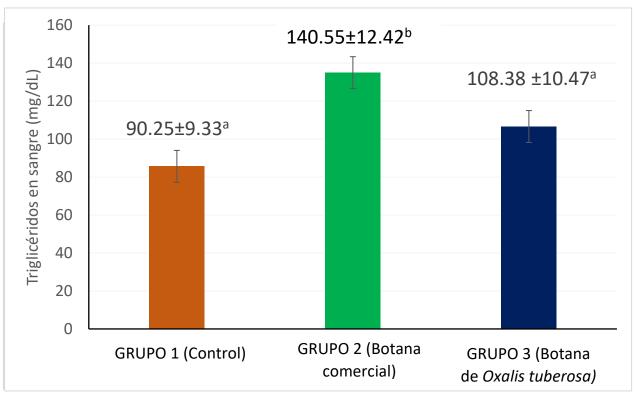


Figura 13. Contenido de triglicéridos en sangre de los tres grupos de experimentación (Mes 2).

8.6.6 Contenido de glucosa en sangre (mg/dL)

Los resultados obtenidos de la medición semanal de glucosa en sangre de los tres grupos de ratas son mostrados en la Tabla 13. El contenido de glucosa en sangre se mantuvo sin diferencias significativas entre los tres grupos hasta la semana 6, ya que, en la 7 se mostró una elevación del contenido de glucosa en sangre por el grupo 2 en comparación con las mediciones pasadas; esta diferencia significativa del grupo 2 contra los otros dos grupos fue constante durante la última semana de experimentación, donde además de mostrar diferencias significativas con los otros grupos mostró un incremento numérico en comparación con el periodo de medición anterior en el mismo grupo.

Como ya fue mencionado anteriormente las dietas del grupo 2 y el grupo 3 son similares calóricamente hablando, sin embargo los resultados de los parámetros bioquímicos fueron diferentes teniendo resultados negativos el grupo dos ya que muestra mayor contenido tanto de triglicéridos como de glucosa en sangre; este efecto positivo del grupo tres sobre su contenido de glucosa en sangre el cual no tuvo diferencias significativas con el grupo control, puede atribuirse a las características de la botana adicionada a la dieta, ya que la botana de *Oxalis tuberosa* presumiblemente contiene una cantidad considerable de almidón resistente, lo que contribuye a la reducción de la concentración de glucosa en la sangre, ya que efectivamente reduce la cantidad de glucosa en el torrente sanguíneo, además de su actuación como fibra dietética la cual actúa a nivel intestinal aumentando el bolo fecal, disminuyendo el tránsito intestinal y produciendo un efecto prebiótico a este nivel (Montero, *et al.*, 2015; Orzel, *et al.*, 2015).

Tabla 13. Contenido de glucosa en sangre mg/dL de los tres grupos de experimentación (Registro semanal).

Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8
Grupo 1 (Control)	85.13±4.86ª	84.25±3.54 ^a	85.00±6.28 ^a	85.63±8.42ª	80.63±7.58 ^a	82.25±6.13ª	83.37±5.15ª	85.63±9.22ª
Grupo 2 (Botana comercial)	81.63±7.01 ^a	80.38±7.03 ^a	84.63±8.36ª	90.5±8.89ª	82.38±4.93 ^a	82.38±4.93ª	93.01±9.27 ^b	98.88±8.09 ^b
Grupo 3 (Botana de <i>Oxalis</i> tuberosa)	82.88±6.84ª	81.75±6.76ª	82.25±5.78ª	80.88±8.86ª	83.38±5.39ª	83.63±8.14ª	85.25±4.53ª	87.88±4.61ª

[±] Desviación Estándar a,b,c Diferencias significativas (p<0.05)

8.7 Histopatología:

8.7.1 Hígado:

El hígado, de los tres grupos de experimentación presentó una arquitectura tisular normal y hepatocitos sin cambios (Fig. 14), lo que nos indica que no hubo modificaciones negativas en el hígado de ninguna rata de los tres grupos, ya que mantuvieron características idénticas a los hígados del grupo control, tomado como referencia para la experimentación. Sin embargo, fue posible observar algunos órganos con hiperemia pasiva y degeneración hidrópica, daño generado por el proceso de sacrificio y tiempos de lavado. Estos resultados son similares a los obtenidos por Olatoye y Aureya, (2017), quienes evaluaron una botana extrudida de *Dioscoria bulbifera* y *Treculia africana*, durante 28 días, sin mostrar evidencia de posible necrosis ni lesiones, manteniendo una apariencia normal, sin daños morfológicos en dicho órgano.

8.7.2 Riñón:

Los principales cambios morfológicos detectados en los animales de experimentación son a nivel renal, donde es observada una ligera vacuolización de las células de los túbulos contoneados de la corteza y de los túbulos rectos de la médula, especialmente en el grupo de animales alimentados con 25% de botana comercial. Este efecto fue mucho menos severo en aquellos alimentados con 25% de botana a base de harina de *Oxalis tuberosa*, y casi nulo en el grupo control, estos cambios son visualizados en la Fig. 15. Dichos resultados son atribuidos a un alto consumo de carbohidratos, ya que puede generar nefropatía, lo que se encuentra altamente asociado con cambios morfológicos en el riñón, como necrosis tubular, infiltración y vacuolización de células, generando inflamación, lo que puede resultar en un síndrome nefrótico, el mecanismo por el cual el daño renal es generado, aún no está claramente especificado. Aunado a esto, se reporta que la falla renal y sus modificaciones morfológicas también son asociadas con el estrés oxidativo, es decir el incremento de las especies reactivas de oxígeno y bajos niveles de antioxidantes en el cuerpo (Pérez, *et al.*, 2009).

Esto podría ser la causa por la que los daños en el grupo tres son mucho menores ya que, como se había mencionado anteriormente, el contenido de carbohidratos es muy similar en ambas dietas, pero en el grupo 3, la botana de *Oxalis tuberosa*, aporta antioxidantes y dentro de sus carbohidratos existe un mayor porcentaje de almidones resistentes, por lo que la absorción de carbohidratos es menor. La nefropatía generada, después de un cierto periodo de tiempo puede generar enfermedades como hipertensión, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, obesidad, entre otros problemas asociados al síndrome metabólico. Es importante mencionar que para poder concretar y diagnosticar un fallo de la función renal, sería necesario realizar algunas otras pruebas, tales como la medición de creatinina y urea en suero sanguíneo (Olatoye y Aureya, 2017).

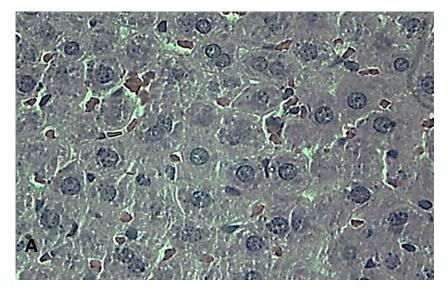
8.7.3 Páncreas:

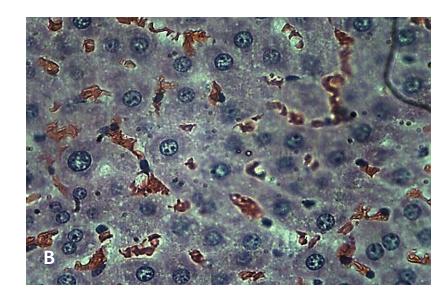
En la Fig. 16, es posible observar algunos de los cortes histológicos de páncreas de los tres grupos de animales de experimentación, donde no hubo diferencias morfológicas entre los tres grupos, que mostraron una arquitectura tisular normal, islotes sin cambios, varios de tamaño grande y algunos de tamaño pequeño, lo que significa que ninguna de las tres dietas significó un cambio negativo sobre el órgano, en comparación con el trabajo realizado por Panchal, et al., (2011), quienes evaluaron durante 16 semanas la ingesta de dietas ricas en carbohidratos y grasas sobre ratas Wistar, donde al realizar los cortes histológicos, lograron observar que las ratas con una ingesta mayor de carbohidratos mostraron una inflamación de páncreas, un aumento de células inflamadas, así como incremento en el tamaño los islotes de Langerhans, lo que sugiere una posible pérdida de sensibilidad a la insulina o resistencia a la misma, en comparación con su control, que no presento cambios. Lo anteriormente mencionado nos da un indicio, de que al incrementar el tiempo de tratamiento o exposición a la dieta adicionada con botanas, implementada en este trabajo de investigación, las ratas del grupo 2, podrían ser las más expuestas a sufrir este tipo de condición y cambios morfológicos en el páncreas ya que como se muestra en los resultados de glucosa en sangre, es el grupo 2 el que mostró mayores niveles de glucosa, lo que podría significar que en periodos de experimentación mayores, alguna clase de daño pancreático y desarrollo de enfermedades como diabetes e hipertensión, explicado y respaldado con lo sugerido en el trabajo de Panchal, *et al.*, (2011).

8.7.4 Intestino delgado:

Con respecto al intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), los resultados son mostrados en la Fig. 17: Los intestinos de los tres grupos mostraron arquitectura tisular normal, epitelio sin cambios, aunque es posible observar una inflamación en la lámina propia del intestino de los animales estudiados en los 3 grupos, con infiltración linfocitaria y eosinofílica, que podría afectar la interpretación de datos observados en este órgano; sin embargo, no hubo cambios morfológicos entre los grupos a nivel epitelial, ni entre la longitud de las vellosidades, sin embargo, se sugiere desarrollar un ensayo dirigido a evaluar morfométricamente la longitud de las vellosidades bajo los tratamientos realizados o similares, con la intención de buscar el efecto de Oxalis tuberosa, reportado por algunos autores como Jiménez, et al., (2015), donde al evaluar la ingesta de diversas dietas, entre ellas una con Oxalis tuberosa sobre varias ratas, encontraron mediante microscopia electrónica de barrido, que el consumo de este producto generaba cambios en las microvellosidades del intestino alargándolas, mejorando el metabolismo de lípidos y la absorción de nutrientes, además de incrementar los antioxidantes presentes en el intestino disminuyendo así, el estrés oxidativo, ya que a su vez funcionan como prebióticos modulando la composición de la microflora, y por ende pueden disminuir el riesgo de contraer algún tipo de cáncer como el de colon.

Hígado:





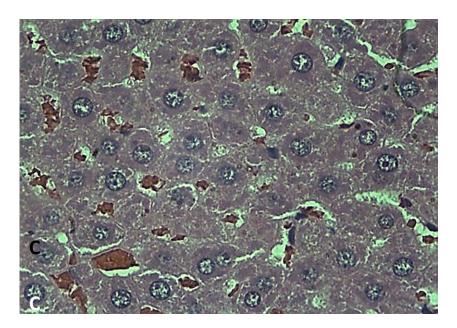
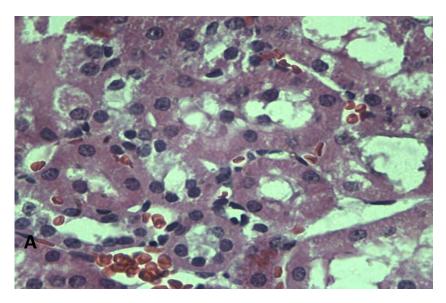
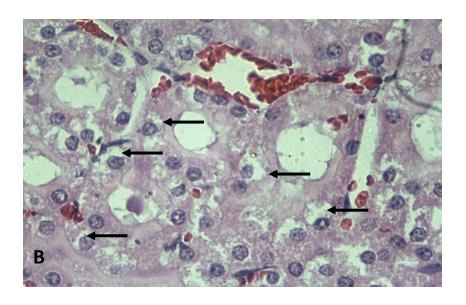


Figura 14. **Hígado. Rata. H-E. 400x**. **A**. Grupo alimentado con alimento comercial. **B.** Grupo alimentado con botana comercial. **C.** Grupo alimentado con botana elaborada con harina de *Oxalis tuberosa*.

No se encontraron diferencias morfológicas significativas entre los tres grupos de trabajo.

Riñón:





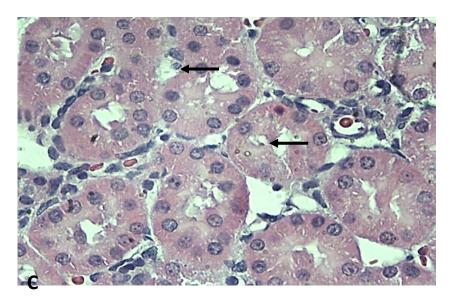
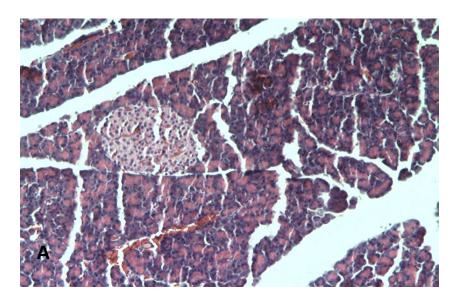
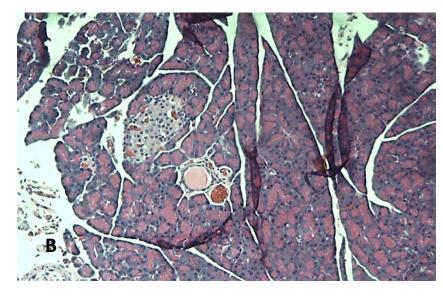


Figura 15. **Riñón. Rata. H-E. 400x. A.** Grupo alimentado con alimento comercial. **B.** Grupo alimentado con botana comercial. **C.** Grupo alimentado con botana elaborada con harina de *Oxalis tuberosa*.

Se observa una vacuolizacion moderada del citopiasma de las células de los túbulos contorneados y rectos en los animales del grupo alimentado con botana comercial. (flechas). Esta condición se observa mínimamente en los animales alimentados con botana de *Oxalis tuberosa* (flechas). El grupo control no presenta cambios.

Páncreas:





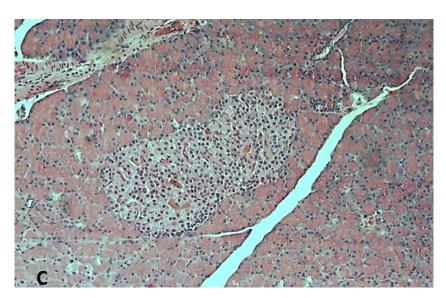
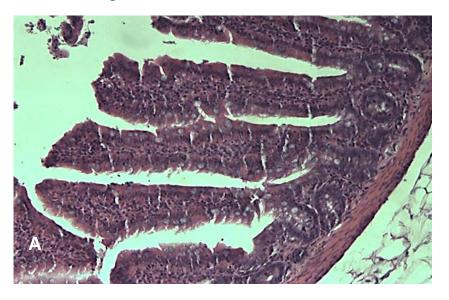
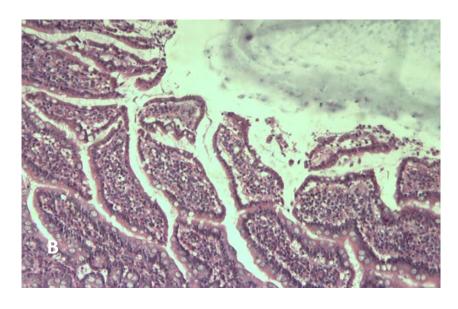


Figura 16. **Páncreas. Rata. H-E. 400x. A.** Grupo alimentado con alimento comercial. **B.** Grupo alimentado con botana comercial. **C.** Grupo alimentado con botana elaborada con harina de Oxalis tuberosa.

No se encontraron diferencias morfológicas significativas entre los grupos estudiados.

Intestino delgado:





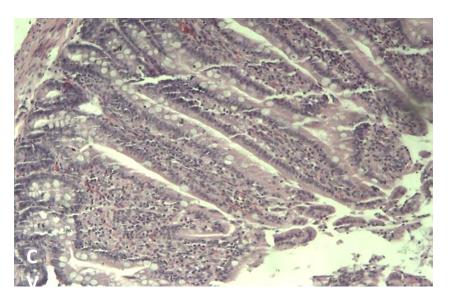


Figura 17. **Intestino delgado. Rata. H-E. 400x. A**. Grupo alimentado con alimento comercial. **B.** Grupo alimentado con botana comercial. **C.** Grupo alimentado con botana elaborada con harina de Oxalis tuberosa.

No se encontraron diferencias morfológicas significativas entre los grupos estudiados.

9 CONCLUSIONES

- El tratamiento para la elaboración de la botana no es tan agresivo contra la actividad antioxidante ya que disminuye muy poco su actividad e incluso en cuanto al radical ABTS incrementa su capacidad de inhibición, aunque si genera algunos cambios significativos en su estructura y contenido de nutrientes, por ejemplo, la disminución en el contenido de almidón total y almidón resistente.
- Hasta el momento la ingesta de un producto horneado de Oxalis tuberosa, es seguro para el consumo, ya que no muestra cambios negativos en los parámetros biológicos de crecimiento.
- El consumo de la botana de Oxalis tuberosa, muestra los mejores parámetros biológicos en el contenido de glucosa en sangre y triglicéridos de los animales de experimentación, indicando una tendencia de estabilidad en comparación con la botana comercial, que muestra un incremento negativo.
- Es probable que con una dieta más elevada en carbohidratos solubles y/o lípidos y/o un tiempo de ensayo más prolongado, fuese factible detectar cambios morfológicos en todos los órganos estudiados, particularmente en hígado.

10 Bibliografía

- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis Association of official Analytical Chemist. EUA.
- Ahmed, F., & Urooj, A. (2008). In vitro starch digestibility and nutritionally important starch fractions in processed roots and tubers. *Starch/Starke*, *60*, 493-499.
- Alberti, K., & Zimmet, P. (1998). Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. *Diabetic Medicine*, *15*, 539-553.
- Alcalde-Eon , C., Saavedra, G., Pascual, S., & Rivas , J. (2004). Liquid chromatography–mass spectrometry identification of anthocyanins of isla oca (*Oxalis tuberosa*, Mol.) tubers. *Journal of Chromatography*, *1054*, 211-215.
- Allison, D., Downey, M., Atkinson, R., Billington, C., Bray, G., Eckel, R., . . . Tremblay, A. (2008). Obesity as a Disease: A white paper on evidence and arguments commissioned by the council of the obesity society. *Obesity, 16*, 1161-1177.
- Arueya, G., & Osundahunsi, O. (2014). Effect of extruded soy-cocoa and corn starch based complementary food on some hematological, biochemical and histopathological parameters of rats. *African Journal of Food Science*, 8(8), 419-426.
- Azadbakht, L., Hajishaflee, M., Golshahi, J., & Esmailzadeh, A. (2015). Snacking behavior and obesity among female adolescents in Isfahan, Iran. *Journal of American College of Nutrition*, *0*(0), 1-8.
- Baduí, S. (2013). Química de os alimentos (5 ed.). D.F: Pearson.
- Betteridge, J. (2000). What is Oxidative Strees? *Metabolism*, 49(2)), 3-8.
- Bosch, X., Alfonso, F., & Bermejo, J. (2002). Diabetes y enfermedad cardiovascular.

 Una mirada hacia la nueva epidemia del siglo XXI. *Revista Española de Cardiología, 55*(5), 525-527.

- Camacho, I., Zazueta, J., Gallegos, J., & Aguilar, E. (2014). Effect of extrusion conditions on physicochemical characteristics and anthocyanin content of blue corn third-generation snacks. *Journal food, 12*, 320-330.
- Campos, D., Noratto, G., Chirinos, R., Arbizu, C., & Roca, W. (2006). Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (Solanum sp.), mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón), Oca (Ocalis tuberosa Molina) and ulluco (Ullucus tuberosus Caldas). *Journal of the Science of Food and Agriculture, 86*, 1481-1488.
- Cees, G. (2006). Effects of snacks pn energy intake: An evolutionary perspective. *Appetite*, *47*, 18-23.
- Chezem, J., Furumoti, E., & Story, J. (1997). Effects of resistant potato starch on cholesterol and bile acid metabolism in the rat. *Nutrition Research*, *17*, 1671-1682.
- Chiba, T., & Ohi, R. (1998). Do we still need to collect stool? Evaluation of visualized fatty acid absorption: Experimental Studis Using Rats. *Journal of parenteral and enteral nutrition*, 22-27.
- Chirinos, R., Betalleuz, I., Huamán, A., Arbizu, C., Pedreschi, R., & Campos, D. (2009).
 HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food chemestry*, 113, 1243-1251.
- Craig, M., Hattersley, A., & Donaghue, K. (2009). Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*, 3-12.
- Cumminhgs, J., & Stephen, A. (2007). Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*, *61*(1), s5-s18.
- Da Rosa, E., & Guerra, A. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. Carbohydrate Polymers. *Carbohydrate polymers*, 83, 317-328.

- ENSANUT. (2016, 02 15). *Federación Mexicana de Diabetes*. Retrieved from http://fmdiabetes.org/la-diabetes-mexico/
- Falcon, M., Yañez, G., & Barrón , J. (2006). Efecto del sexo de la rata (sprague dawley) sobre la digestibilidad y razón neta de proteína en alimentos de distinta calidad proteica. *Revista Chilena de Nutrición, 33*(3), 511-517.
- FAO. (1994). Neglected crops 1492 from a different perspective. *Food and agriculture organization of the United Nations*.
- Floegel, A., Ok, D., Jin, S., & Chun, O. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*, 1043-1048.
- Gunaratne, A., & Hoover, R. (2002). Effect of heat moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate polymers*, 425-437.
- Hernández, A., Méndez, G., Velazquez, M., Solorza, J., & Bello, L. (2004). Isolation and Partial Characterization of Mexican *Oxalis tuberosa* Starch. *Starch/Stärk, 56*, 357-363.
- Herrera, E. (2014, 05 20). *INEGI*. Retrieved from http://www.milenio.com/monterrey/industria_snacks_refrescos_Mexico-comida_rapida_0_548345189.html, 2014.
- Hirt, M., Leiter, A., Beck, S., & Shuchmann, H. (2014). Effect of extrusion coking process parameters on the retention of bilberry anthocyanins in starch based food. *Journal of food engineering*, *125*, 139-146.
- Hoseney, R. (1991). *Principios de ciencia y tecnlogía de los Cereales* (1 ed.). Zaragoza, España: Acribia.
- Hsu, C., Chen, W., Weng, Y., & Tseng, C.-Y. (2003). Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food chemestry*, *83*, 85-92.

- Inan, E., & Buyuktuncer, Z. (2017). The effect of various cooking methods on resistant starch content of foods. *Nutrition and Food Science*, Accepted article.
- Jimenez, M., & Sammán, N. (2014). Caracterización química y cuantificación de fructooligosacáridos, compuestos fenólicos y actividad antirradical de tubérculos y raíces andinos cultivados en el noroeste de Argentina. Archivos LAtinoamericanos de Nutrición, 64, 131-138.
- Jimenez, M., Rossi, A., & Sammán, N. (2015). HEalt properties of oca (*Oxalis tuberosa*) and yacon (Smallanths sonchifolius). *Food funtion, Doi:10.1039/c5fo00174a*, Accepted article.
- Juániz, I., Ludwig, I., Huarte, E., Pereira, G., Moreno, J., Cid, C., & Paz, M. (2016).

 Influence of heat treatment on antioxidant capacity and polyphenolic compounds of selected vegetables. *Food Chemistry*, 197, 466-471.
- Kittipongpatana, O., & Kittipongpatana, N. (2015). Resistant Starch Content of Native and Heat- Moisture Treated Jackfruit Seed Starch. *Scientific World Journal*, 1-10.
- Konigsberg, M. (2008). *Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas*. (1 ed.). D.F.: Manual Moderno.
- Lai, H. (2001). Effects of hydrothermal treatment on the physicochemical properties of pregelatinized rice flour. *Food Chemistry*, 72, 455-463.
- Lechi, A. (2016). The obesity paradox: is it really a paradox? Hypertension. *Eat weight disord*.
- Lee, K., & Gyu, H. (2016). Comparative effects of slowly digestible and resistant starch from rice in high-fat diet-induced obese mice. *Food science and Biotechnology*, *25*(5), 1443-1448.
- Li, S., Ward, R., & Gao, Q. (2011). Effect of heat moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (Phaseolus radiatus) starch. *Food hydrocolloidas*, *25*, 1702-1709.

- Marroú, M., Villacorta, M., & Pagador, S. (2011). Composición química de "Oca" (*Oxalis tuberosa*), "Arracacha" (Arracaccia xanthorriza) y "Tarwi" (Lupinus mutabilis). formulación de una mezcla base para productos alimenticios. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología*, 2, 239-252.
- Martinez Meza, Y., Islas Hernandez, J., Gutierrez Meraz, F., & Osorio Díaz, P. (2016). Formulacion de una botana por extrusión con mezcla de harina de plátano y amaranto. *Investigación y desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 1*(2), 728-733.
- McCleary, B., & Monaghan, D. (2002). Measurement of resistant starch. *Journal of AOAC International*, 85(3), 665-675.
- Melchiorre, P. (1985). Identificación de tubérculos andinos (*Oxalis tuberosa, Ullucus tuberosus* y *Tropaeobim tuberosum*) mediante caracteres anatómicos y exomorfológicos. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 6, 141-153.
- Mendes, D., Mendoza, M., Vieira, C., & Washington, L. (2014). Assessment of Nano Cellulose from Peach Palm Residue as Potential Food Aditive: Part: II:

 Preliminary Studies. *Journal of Food Science and Technology*, 5641-5650.
- Montero, K., Moreno, R., Molina, E., Segundo, M., & Sánchez, A. (2015). Efecto del consumo de panes integrales con amaranto, sobre la respuesta glicémica y parámetros bioquímicos en ratas Spangre dawley. *Nutrición hospitalaria, 31*(1), 313-320.
- Morales, S., Martínez, H., & Rodríguez, V. (2016). Evaluación nutricional de botanas y productos intermediarios a base de harina de trigo de alto consumo en México. Revista Multidisciplinaria de Avances de Investigación., 3, 30-40.
- Nayak, B., Berrios, J., Powers, J., Tang, J., & Ji, Y. (2011). Colored potatoes (Solanum tuberosum L.) dried for antioxidant-rich value-added foods. *Journal of food processing and preservation*, *35*, 571-580.

- Nems, A., Peksa, A., Kucharska, A., Sokol-Letowska, A., Kita, A., Drozdz, W., & Hamouz, K. (2015). Anthocyanin and antioxidant activity of snacks with coloured potato. *Food chemestry, 172*, 175-182.
- Nouri, O., Zeghal, N., Makni, S., Makni-Ayadi, F., Trigui, M., Ellouz-Ghorbel, R., . . . Gargouri-Bouzid, R. (2015). New food from a potato somatic hybrid: Nutritional equivalence and safety assessment by a feeding study on rats. *Journal of Science Food and Agriculture*, *95*, 1911-1917.
- Olatoye, K., & Aureya, G. (2017). Toxicological parameters of albino rats fed with extruded snacks from Aerial yam (Dioscoria bulbiferia) and african breadfruit seed (Treculia africana). *Food science and nutrition*, *6*, 94-100.
- Orzel, D., Zmijewski, M., & Bronkowska, M. (2015). Impact of products from groun bickwheat added to balanced diets on biochemical blood markers in Winstar rats. *Roczini Panstwowego Zakladu Higieny, 66*(3), 239-244.
- Ovaskaien, M., Reinivuo, H., Tapanainen, H., Korhonen, T., & Pakkala, H. (2006).

 Snacks as an element of energy intake and food consumption. *European Journal of Clinical Nutrition*, 494-501.
- Panchal, S., Poudyal, H., Biotecht, M., Iyer, S., Nazer, R., Alam, A., . . . Brown, L. (2011). High-carbohydrate, High-fat Diet–induced Metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal Cardiovascular Pharmcology*, *57*(5), 611-624.
- Parada, J., & Rozowski, J. (2007). Relación entre la respuesta glicémica del almidón y su estado estructural. *Revista Chilena de Nutrición*, 1-13.
- Pérez Torres, I., Roque, P., Hafidi, M., Diaz, E., & Baños, G. (2009). Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome.

 Influence of gender. *Free Radical Research*, *43*(8), 761-771.
- Philip, J., Muir, J., Birkett, A., Lu, Z., Jones, G., Dea, K., & Young, G. (1995). Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation dependent events in humans.

 Amercian Journal of Clinical Nutrition, 62, 121-130.

- Porkony, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2001). *Antioxidantes de los alimentos: Aplicaciones prácticas* (1 ed.). Zaragoza, España: Acriba.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., & Pannala, A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*, 1231-1237.
- Rhonda, S., Sebastian, M., Wilkinson, C., Joseph, D., & Goldman, M. (2011). What we eat in America. *Dietary Data Brief*(4), 1-7.
- Ross, M., & Pawlina, W. (2007). *Histología* (5 ed.). Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
- Sajilata, M., & Singhal, R. (2005). Specialty starches for snack foods. *Corbohydrate polymers*, *59*, 131-151.
- Salluca, T., Peñarrieta, M., Alvarado, A., & Bergenstahl, B. (2008). Determination of total phenolic compounds content and the antioxidant capacity of andean tubers and roots (isaño, oca, ulluco and arracacha). *Revista Boliviana de Química, 25*, 58-61.
- Sangketkit, C., Savage, G., Mason, S., & Mason, L. (2001). Oxalate Content of Raw and Cooked Oca (Oxalis tuberosa). Journal of Food Composition and Analysis., 14, 389-397.
- Serna, S. (2013). Química de almacenamiento e industrialización de los cereales (2 ed.). D.F.: Agt.
- Sharma, P., Singh Gujral, H., & Singh, B. (2012). Antioxidant activity as affected by extrusion cooking. *Food chemestyr*, *131*, 1406-1413.
- UNICEF. (2016). Salud y nutrición. El doble reto de la malnutrición y la obesidad.
- Uribe, V. (2015). Bimbo, horneando el crecimiento. México D.F.: Grupo Monex.
- Uthumporn, U., Zaidul, I., & Karim, A. (2010). Hydrolysis of graular starch at subgelatinization temperature using a mixture of amylolitic enzymes. *Food and Bioproducts Processing*, 88, 47-54.

- Valencia, K., Bambila, J., & Mora, J. (2010). Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia de México, 44*, 955-963.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food chemestry, 111*, 816-823.
- Williams, B., Cuvelier, E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenchaft and Technologie, 28*, 25-30.
- World Health Organization. (2018, 02 06). *Diabetes Action Online*. Retrieved from Qué es la diabetes: http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/index2.html
- Yadav, B., Sharma A, & Yadav, R. (2010). Resistant starch content of conventionally boiled and pressure-cooked cereals, legumes and tubers. *Journal of Food Scientist and Technologists*, *47*(1), 84-88.
- Yin, H., Xu, L., & Porter, N. (2011). Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chemical Reviews*, 111, 5944-5972.
- Zaal, A., Musaiger, A., & Souza, R. (2009). Dietary habits associated with obesity among adolescents in Dubai. United Arab Emirates. *Nutrición Hospitalaria*, 24(4), 437-444.

11 Anexos



IV ENCUENTRO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGÍA EN LA UATX

3-6 DE DICIEMBRE 2017. TLAXCALA, MÉXICO.

Otorga la presente

CONSTANCIA

A:

Aguilar, F., Güemes, N., Piloni, J., Soto, S., Quintero, A.

Por la presentación en cartel del trabajo

EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE UNA BOTANA HORNEADA DE *Oxalis tuberosa* SOBRE UN MODELO ANIMAL

al IV Encuentro Internacional sobre biotecnología en la UATx celebrado en la Universidad Autónoma de Tlaxcala, México los días 3-6 de diciembre de 2017.

Dr. Gerardo Díaz Godinez Líder del cuerpo académico de Biotecnología.

Dra. Ma. del Carmen Sánchez Hernández Presidente del IV Encuentro Internacional sobre biotecnología





Dr. Rubén Díaz Godínez Jefe del laboratorio de Biotecnología.





COLEGIO MEXICANO DE INGENIEROS BIOQUÍMICOS, A.C.

CERTIFICATE OF PARTICIPATION

It is certified, that:

Fernando Aguilar Ramirez; Norma Güemes Vera; Javier Piloni Martini; Alfonso Totosaus Sánchez; Sergio Soto Simental;
Aurora Quintero Lira

Authors of the work:

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF A BAKED SNACK OF Oxalis tuberosa

Keyword: FTC54FER20171218

Participated in the *poster* session of the X International Congress, XXI National Congress on Biochemical Engineering and the XVI Biomedicine and Molecular Biotechnology Scientific Meetings, held at 21st Century Convention Center, Mérida, Yucatán, México from March, 21st to 23th 2018.

Raúl Chávez Alvircio, IBQ President NGENEROS BIOCOMINA

Deifilia Ahnatzi Chacón, PhD Chair Scientific Committee



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Otorga el presente

4° CONGRESO DE CIENCIA, EDUCACIÓN Y TECNOLOGÍA



RECONOCIMIENTO

A: Fernando Aguilar Ramírez, Norma Güemes Vera, Javier Piloni Martini, Aurora Quintero Lira, Perla Osorio Díaz

Por su valiosa participación y exposición del cartel titulado:

"CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE UNA BOTANA HORNEADA DE OXALIS TUBEROSA"

> que se llevó a cabo los días: 19 al 22 de junio de 2018 en las instalaciones de esta Facultad

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 19 de junio de 2018

Pro Alma Luisa Rovilla Vázquaz

Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez Jefa de la División de Ciencias Químico Biológicas

CONGRESO



4º CONGRESO CIENCIA. EDUCACIÓN Y TECNOLOGÍA