



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

Efectos de *Chlorella vulgaris* sobre parámetros biométricos y composición corporal: estudio dual sobre metabolismo glucídico en ratas y respuesta a estrés hipóxico en humanos

Autora: Elena Satta

Supervisora: Dr. Sara Ramos Romero

Trabajo de Fin de Máster

*Máster en nutrición y metabolismo con especialización en alimentos
saludables*

Curso 2024-2025

Tutora: Dr. Sara Ramos Romero

Facultad de Biología - Instituto de Química Avanzada de Cataluña
(IQAC-CSIC)

Barcelona, España

Resumen

Chlorella es una microalga utilizada como alimento funcional y complemento alimenticio por su perfil nutricional completo en macronutrientes, micronutrientes, antioxidantes y fibra. El objetivo del estudio fue evaluar si la introducción de *Chlorella* en la dieta influye en la composición corporal en ratas y en una intervención nutricional en voluntarios.

En la primera parte, se alimentaron 20 ratas con dieta estándar modificada (o no, por comparación) con *Chlorella* durante 6 meses, midiendo: peso corporal (inicial y final) y de los órganos, ingesta y excreción en jaulas metabólicas y glicemia mediante prueba de tolerancia a la glucosa. Los animales que consumieron *Chlorella* presentaron una tolerancia a la glucosa más modulada que sus controles, aunque en lo demás parámetros medidos no hubo diferencias. Este efecto puede relacionarse a un aumento de la expresión del transportador de glucosa 4.

Para la intervención nutricional, 18 voluntarios fueron expuestos antes y después de la suplementación con *Chlorella* a hipoxia en cámara hipobárica simulando una subida a 4500 m. Se evaluó la composición corporal por bioimpedancia antes y después de cada estímulo hipobárico incluyendo peso corporal, masa grasa, masa libre de grasa, masa muscular, agua corporal total e intracelular/extracelular, IMC, metabolismo basal, grasa visceral, masa ósea y proteínas. La suplementación con *Chlorella* atenuó parcialmente los efectos de la hipoxia en variables como agua corporal total, intracelular y extracelular, masa libre de grasa, masa muscular y metabolismo basal. Estos efectos pueden asociarse en parte a la activación de la vía mTOR y a una mayor excreción de grasa por su alta concentración de fibra.

En conclusión, los resultados indican que *Chlorella* puede actuar, de forma leve, como factor protector frente a diferentes tipos de estrés. Estos sugieren que se puede considerar un ingrediente alimentario útil para regular parámetros biométricos y funciones fisiológicas correlados con la composición corporal.

Palabras clave: *Chlorella vulgaris*, composición corporal, bioimpedancia, hipoxia hipobárica, tolerancia a la glucosa

Lista de abreviaciones

ACT porcentaje de agua corporal total

CHLO *Chlorella*

EDL extensor digital larga (músculo)

GAS gastrocnemio (músculo)

IMC índice de masa corporal

Post-Chlo antes de la suplementación con *Chlorella*

Post-HH antes de la hipoxia en camera hiperbárica

Pre-Chlo antes de la suplementación con *Chlorella*

Pre-HH antes de la hipoxia en camera hiperbárica

REF reducción de oxígeno

ROS especies reactivas de oxígeno

STD standard

WKY ratas Wistar-Kyoto

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. <i>Chlorella como microalga comestible.....</i>	5
1.2. <i>Altitud e hipoxia hipobárica aguda</i>	6
1.3. <i>Alteraciones en la Composición Corporal Inducidas por Hipoxia</i>	7
2. OBJETIVOS.....	9
2.1. <i>Objetivo General</i>	9
2.2. <i>Objetivos Específicos</i>	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1. <i>Intervención nutricional en ratas.....</i>	10
3.2. <i>Intervención nutricional en humanos.....</i>	12
3.3. <i>Análisis estadístico.....</i>	13
4. RESULTADOS	14
4.1. <i>Intervención Nutricional en Ratas.....</i>	14
4.1.1 <i>Datos Biométricos, de Consumo y Excreción en ratas</i>	14
4.1.2 <i>Test de tolerancia a la glucosa (TTGO) en ratas</i>	15
4.2. <i>Intervención Nutricional en Humanos.....</i>	16
4.3. <i>Análisis encuesta nutricional.....</i>	18
5. DISCUSIÓN	19
5.1. <i>Efectos fisiológicos de la dieta modificada con Chlorella en ratas</i>	19
5.2. <i>Efectos fisiológicos de la suplementación con Chlorella en humanos.....</i>	20
6. CONCLUSIONES	25
7. BIBIOGRAFIA:	26
ANEXOS	31
<i>Anexo 1: Composición nutricional de la Chlorella usada en la suplementación....</i>	31
<i>Anexo 2: Enquesta nutricional</i>	33
<i>Anexo 3:.....</i>	40

1. INTRODUCCIÓN

1.1. *Chlorella* como microalga comestible

Las microalgas se definen como microorganismos unicelulares, fotosintéticos y típicamente acuáticos (Abreu et al., 2023). *Chlorella* es un género de pequeñas algas verdes unicelulares esféricas que vive en agua dulce o salada (según la especie), aunque también se puede encontrar en el suelo, viviendo de forma independiente, así como en simbiosis con líquenes o protozoos (Phukan et al., 2011; Yarmohammadi et al., 2021). Este género pertenece al filo Chlorophyta y a la clase Trebouxiophyceae. y su nombre deriva del griego, “chloros” que significa verde, y del sufijo latino “-ella” que significa pequeño (Lorenzo et al., 2023; Richmond & Hu, 2013).

De acuerdo con el catálogo de nuevos alimentos de la UE, las microalgas de la familia *Chlorellaceae* pertenecientes a las especies *Auxenochlorella protothecoides*, *Auxenochlorella pyrenoidosa*, *Graesiella emersonii*, *Heterochlorella luteoviridis*, *Jaagichlorella luteoviridis*, *Parachlorella kessleri*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella sorokiniana* y *Chlorella vulgaris* se reconocen como tradicionalmente consumidas (Food and Feed Information Portal Database | FIP, n.d.). De todas las especies consumibles de microalgas, la especie *Chlorella vulgaris* es la más conocida, usada y estudiada de este género (Lorenzo et al., 2023). La composición nutricional (*Tabla 1 (A)*) y bioquímica de *Chlorella* puede variar a según la especie, cepa y condicione de cultivo (Lorenzo et al., 2023). A pesar de esta variabilidad, *Chlorella vulgaris* presenta un perfil de nutrientes completo, que incluye macronutrientes y micronutrientes junto con diversos compuestos bioactivos (*Tabla 1 (B)*) (Wang et al., 2024).

Tabla 1: A) Compuestos bioactivos presentes en *Chlorella* (% peso húmedo) (Ramos-Romero et al., 2021) B). Composición nutricional de *Chlorella vulgaris* Macronutrientes presentes en *Chlorella vulgaris* (% peso seco) (Wang et al., 2024).

A)			B)		
Categoría de nutrientes	Nutriente	Rango de contenido (% peso húmedo)	Categoría de nutrientes	Nutriente	Rango de contenido (% peso seco)
Carbohidratos	Fibra dietética	>30%	Proteínas	Proteína total	43%–60%
Minerales	Fe, Ca, Mg, K, Zn	>10%	Lípidos	Lípidos totales	5%–58%
Vitaminas	A, C, E, K1, B12, B1, B2, B6		Carbohidratos	Carbohidratos totales	12%–55%
Pigmentos	Ficocianina, carotenoides	1–4%			

Nutricionalmente, la *Chlorella* aporta todos los aminoácidos y ácidos grasos esenciales, contiene más proteína que la soja y arginina, precursora del óxido nítrico (Lorenzo et al., 2023; Bito et al., 2020). Su pared de celulosa (65% de los carbohidratos totales) incluye polisacáridos y β -glucanos con potencial acción antidiabética, antihiperlipidémica y prebiótica. En este sentido, *Chlorella* puede potenciar la proliferación de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, aumentar la producción de ácidos grasos de cadena corta y reforzar la barrera intestinal, lo que puede atenuar la inflamación y la resistencia a la insulina (Ramos-Romero et al., 2021). Además, a nivel micronutricional aporta vitaminas B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, A, E, K₁ y D₂, junto con minerales esenciales (Na, K, Ca, Mg, P, Cu, Zn, Mn, I, Fe) (Lorenzo et al., 2023; Wang et al., 2024; Ramos-Romero et al., 2021).

La suplementación con *Chlorella vulgaris* presenta múltiples efectos beneficiosos para la salud, según lo observado en modelos animales e intervenciones nutricionales en humanos (Bito et al., 2020). En este sentido y en base a su efecto antiinflamatorio y antioxidante anteriormente descrito, el consumo de *Chlorella* podría ayudar fisiológicamente ante situaciones de estrés, como es la exposición a altitud.

1.2. Altitud e hipoxia hipobárica aguda

A nivel fisiológico, el organismo desarrolla tres niveles de respuestas adaptativas a la hipoxia caracterizados por temporalidad y mecanismos de control. Las respuestas inmediatas dependen del sistema nervioso central e incluyen el reajuste del equilibrio ácido-base, constituyendo la primera defensa ante la reducción de oxígeno (Viscor et al., 2020). Este primer nivel constituye una respuesta de emergencia característica de reacciones adrenérgicas intensas, complementada con vasoconstricción pulmonar hipóxica. El sistema nervioso central elabora una respuesta defensiva con intensa descarga adrenérgica que provoca reajustes inmediatos del patrón ventilatorio, manifestándose como hiperventilación compensatoria. En segundo nivel temporal, se manifiestan alteraciones bioquímicas que cursan en el transcurso de horas. Estas incluyen cambios de afinidad entre hemoglobina y oxígeno. Estas modificaciones representan ajustes metabólicos que optimizan transporte y utilización del oxígeno disponible, mejorando la eficiencia del sistema de transporte de gases. Por último, las respuestas a medio y largo plazo están controladas por el sistema endocrino, que provoca un aumento de vascularización periférica y eritropoyesis (incremento en concentración de hemoglobina y masa eritrocitaria) (Viscor et al., 2020).

La respuesta hipóxica desencadena rápida reprogramación transcripcional del metabolismo energético. La mayoría de literatura científica afirma que, en humanos adultos sanos, la hipoxia aumenta la tasa metabólica en reposo (Gu & Jun, 2018). Sin embargo, la reprogramación metabólica bajo hipoxia depende, además de la severidad y duración de la hipoxia y de los parámetros experimentales empleados, del tejido concreto; por ejemplo, en el músculo esquelético se observa pérdida de densidad mitocondrial, cambio de ácidos grasos a glucosa, aminoácidos o cuerpos cetónicos y transición de un metabolismo aeróbico a uno anaeróbico (Cheng et al., 2022; Horscroft & Murray, 2014).

Además, la menor disponibilidad de oxígeno enlentece el flujo de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial, favorece la fuga electrónica y la reducción parcial del oxígeno, originando especies reactivas de oxígeno (ROS) que desencadenan estrés oxidativo (Hamanaka & Chandel, 2009). Por tanto, la exposición a hipoxia, natural o simulada es un modelo de estrés fisiológico que puede aplicarse a diversos ámbitos, incluyendo el estudio del metabolismo. A nivel de laboratorio, la exposición controlada a hipoxia mediante cámara hipobárica, que reproduce la reducción barométrica y la consecuente caída en la presión parcial de oxígeno propia de la altitud seleccionada, permite estudiar las adaptaciones fisiológicas a la hipoxia. (Viscor et al., 2020).

1.3. *Alteraciones en la Composición Corporal Inducidas por Hipoxia*

La hipoxia se produce por una reducción de la presión parcial de oxígeno en sangre y tejidos, activando respuestas compensatorias del organismo como incremento ventilatorio, activación simpática y modificaciones del gasto cardíaco, de manera proporcional a la altitud de exposición. Los quimiorreceptores carotídeos detectan la disminución de la presión parcial arterial de oxígeno e inducen la estimulación de la ventilación mediante la activación del sistema simpático, que aumenta las demandas metabólicas. Estas adaptaciones fisiológicas complejas por tanto influyen sobre la composición corporal, provocando en general una reducción de la masa grasa, muscular y el contenido de agua corporal (Dünnwald et al., 2019).

Los mecanismos propuestos como responsables de estas modificaciones composicionales incluyen fundamentalmente el incremento de la tasa metabólica basal y el establecimiento de un balance energético negativo, caracterizado por la influencia de una ingesta energética disminuida (debido a la reducción del apetito por

menor activación de la grelina) y el aumento del gasto metabólico (Dünnwald et al., 2019).

Las modificaciones del contenido hídrico corporal en condición de hipoxia se originan por una ingesta hídrica inadecuada, hiperventilación compensatoria y pérdidas de agua respiratorias y superficiales (Dünnwald et al., 2019). En este contexto, la reducción del volumen plasmático surge por la disminución de la actividad de aldosterona e incremento del péptido natriurético auricular, causando mayor excreción de sodio y la llamada "diuresis a gran altitud". Paradójicamente, la retención hídrica también puede causar hiperhidratación durante los primeros días de exposición a hipoxia, sugiriendo mecanismos adaptativos bifásicos (Viscor et al., 2020).

En términos ponderales, la hipoxia induce un descenso del peso corporal porque el incremento de la tasa metabólica, sumado a la diuresis de altitud y a la subhidratación por hiperventilación, genera un déficit energético e hídrico que el organismo compensa reduciendo masa total (Dünnwald et al., 2019).

Si la exposición a hipoxia se alarga lo suficiente, tras agotar reservas de glucógeno y grasa, se catabolizan las proteicas. La inhibición de síntesis proteica muscular y la preferencia metabólica a usar masa muscular como fuente energética exacerban el desgaste muscular. El catabolismo proteico también se produce para contrarrestar la disminución del suministro de oxígeno (Dünnwald et al., 2019). La reducción muscular disminuye la tasa metabólica basal y reduce la distancia de difusión del oxígeno, compensando parcialmente el suministro de O₂ disminuido. Todos estos cambios ocurren predominantemente a partir de los 5.000 metros, siendo menor en altitudes moderadas (Dünnwald et al., 2019).

2. OBJETIVOS

2.1. *Objetivo General*

El objetivo general de este proyecto es evaluar el impacto sobre parámetros biométricos y la composición corporal de la incorporación de *Chlorella vulgaris* mediante sustitución dietética en un modelo animal y mediante suplementación en humanos.

2.2. *Objetivos Específicos*

- 1.- Evaluar los efectos biométricos de una sustitución dietética con *Chlorella vulgaris* en ratas durante 6 meses.
- 2.- Determinar los efectos de una suplementación con *Chlorella vulgaris* durante 21 días en la composición corporal de humanos.
- 3.- Valorar la respuesta fisiológica de personas suplementadas con *Chlorella vulgaris* en cámara hipobárica.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Intervención nutricional en ratas

Se utilizaron un total de 20 ratas hembra WKY (Envigo, Indianapolis, IN), de 8 a 9 semanas de edad. Todas las manipulaciones animales se realizaron por la mañana para minimizar los efectos de los ritmos circadianos. Todos los procedimientos siguieron estrictamente las directrices de la Unión Europea para el cuidado y manejo de animales de laboratorio (directiva 2010/63/UE), bajo licencia de las autoridades regionales catalanas (referencia DAAM7921) y con la aprobación del Subcomité de Bioética del Consejo Superior de Investigaciones Científicas de España.

Las ratas se alojaron ($n = 2$ por jaula) en condiciones controladas de humedad (60%) y temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), con un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 horas. Todos los animales fueron alimentados *ad libitum* y tuvieron libre acceso al agua. Se dividieron aleatoriamente en dos grupos dietéticos ($n = 10$ por grupo):

- Grupo control (STD): alimentado con la dieta estándar (STD) AIN93-M.
- Grupo *Chlorella* (CHLO): alimentado con la dieta AIN93-M modificada con un 10% de *Chlorella vulgaris* y EPA/DHA de origen algal (16,6 g/kg) (Tabla 3).

Tabla 2: Composición nutricional del pienso experimental STD y CHLO.

Ingrediente (g/kg)	Macronutrientes (g/kg)	STD	CHLO
Almidón de maíz		465.7	438.2
Maltodextrina		155	155
Sacarosa		100	100
Celulosa		50	35
	Carbohidratos disponibles	770.7	728.2
EPA/DHA		-	16.6
Aceite de lino		40	15.9
	Grasa	40	32.5
Caseína		140	90
L-cisteína		1.8	1.8
	Proteína	141.8	91.8
<i>Chlorella vulgaris</i>		-	100
	Carbohidratos	-	15
	Fibra	-	15
	Grasa	-	7.5
	Proteína	-	50
Bitartrato de colina		0.008	0.008
Minerales		35	35
Vitaminas		10	10
Bitartrato de colina		2.5	2.5
	Total	1000	1000
Composición Porcentual			
	Carbohidratos (% en peso)	77.1	75.82
	Grasa (% en peso)	4	4
	Proteína (% en peso)	14.2	14.2
	Energía de carbohidratos (% Kcal)	76.9	76.5
	Energía de grasa (% Kcal)	8.9	9
	Energía de proteína (% Kcal)	14.1	14.1
	Densidad energética total (% Kcal)	4	4

Durante la semana 20, las ratas fueron colocada individualmente en jaulas metabólicas durante la noche para obtener datos de la ingesta de alimento y agua, así como de las excreciones de heces y orina.

El test de tolerancia oral a la glucosa (TTOG) se realizó durante la semana 22 con los animales en ayunas. Se administró una solución de glucosa (1 g/kg de peso corporal) por sonda oral, y se midió la concentración de glucosa en sangre a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después de la ingesta de glucosa mediante glucómetro de sangre (Ascensia ELITE XL blood glucose meter; Bayer Consumer Care, Basel, Suiza).

Tras 24 semanas de intervención nutricional, las ratas se sometieron a ayuno nocturno y se anestesiaron por vía intraperitoneal con ketamina (80 mg/kg) y xilacina (10 mg/kg). Se tomaron muestras de bazo, páncreas, yeyuno, íleon, ciego, riñones, grasa perigonadal, hígado, corazón, gastrocnemio y músculo extensor digital largo (EDL) que se lavaron con solución salina al 0,9%, pesaron y congelaron en nitrógeno

líquido. Todas las muestras se almacenaron a -80°C para su posterior análisis. Se midió el peso corporal al principio y al final del estudio.

3.2. Intervención nutricional en humanos

Este ensayo se llevó a cabo íntegramente en el Servicio de Hipobaría y Fisiología Biomédica del Campus de la Salut de Bellvitge de la Universitat de Barcelona. Todos los sujetos fueron instruidos sobre la ejecución del ensayo, recolección de datos y se obtuvo el consentimiento por escrito de todos los participantes de este ensayo.

Los principales criterios de inclusión fueron: sujetos adultos sanos, de 18-60 años, sin enfermedades cardiovasculares, gastrointestinales o neurológicas, así como ausencia de alergias a los componentes de la *Chlorella vulgaris*. Los principales criterios de exclusión fueron: fumadores activos, bebedores habituales, mujeres embarazadas y lactantes, así como los sujetos bajo suplementos nutricionales o tratamientos antibióticos en las dos semanas previas al estudio.

Los participantes fueron un total de 18 voluntarios con diferentes niveles de actividad física habitual. La edad media fue de 27,67 años (rango 22-46), la altura media de 168,86 cm (rango 155-184) y la masa corporal media de 65,6 kg (rango 49-86,3).

Los pacientes recibieron 2 sobres de *Chlorella vulgaris* en polvo y 2 botellas de una bebida vegetal a base de arroz y coco para solubilizarla, y se les pidió que no cambiaran su actividad física regular, dieta, medicamentos y dosis durante el estudio. Para la suplementación se utilizó una dosis segura de 5 g/día que se consideró similar a la que se podría consumir a través del consumo diario de un alimento funcional. La *Chlorella* administrada era una mezcla al 50% de dos tipos diferentes de productos que se diferencian por el método de producción: *Chlorella* dorada y *Chlorella* blanca, proporcionada por la empresa Algeemy. El perfil nutricional completo resultante de los análisis realizados por el proveedor de los dos tipos de *Chlorella* está resumido en el Anexo 1.

Se utilizó un cuestionario estructurado para recopilar información sobre hábitos dietéticos, conocimientos de nutrición y otras características del estilo de vida (Anexo 2). El cuestionario se basó en el trabajo de Rito et al., 2019 y Vázquez-Espino et al., 2020 con modificaciones.

Los voluntarios acudieron al laboratorio un total de cuatro veces: dos veces antes y después del periodo de suplementación, que duró 21 días. En ambas visitas, se evaluó

la composición corporal mediante un analizador de bioimpedancia de multifrecuencia segmentaria (Tanita Europe BV Hoogoorddreef 56e1101 BE Amsterdam The Netherlands) determinando los diferentes parámetros biométricos corporales (peso corporal (kg), masa grasa (kg), porcentaje de masa grasa (%), masa libre de grasa (kg), agua corporal total (L), porcentaje de agua corporal total (ACT %), agua extracelular (L), agua intracelular (L), índice de masa corporal (IMC kg/m²), metabolismo basal (kcal), grasa visceral (kg), masa ósea (kg), índice de metabolismo basal y proteínas (kg)) antes y después de su exposición a hipoxia hipobárica.

El estímulo de hipoxia hipobárica se aplicó en una cámara hipobárica controlada por ordenador (CHEx-1; Moelco, España) durante 1,5 horas. La altitud simulada fue de 4.500 metros (433 mmHg $\approx$ 577 mbar=hPa), alcanzada en 15 minutos y regresando a la presión al nivel del mar en otros 15 minutos.

3.3. *Análisis estadístico*

Todos los datos se analizaron con GraphPad Prism 5. Los resultados se expresan como medias $\pm$ error estándar. Se evaluó la normalidad y heterogeneidad de los datos, y la significación estadística se determinó por *t*-student, test de Mann-Whitney y ANOVA de dos vías para medidas repetidas o ANOVA de una vía, usando la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. *Intervención nutricional en ratas*

4.1.1 Datos Biométricos, de Consumo y Excreción en ratas

Los pesos corporales de los animales se determinaron al inicio y final de la intervención nutricional (semanas 0 y 24, respectivamente). Los pesos de los animales de los grupos STD y CHLO eran iguales entre ellos tanto al inicio del estudio, (SEM 0) como al final del mismo (SEM 24) (*Figura 1 (A)*). Se observaron diferencias muy significativas ($p < 0,001$) en el peso corporal al comparar los valores iniciales (SEM0) y finales (SEM 24) tanto dentro del grupo STD, como del grupo CHLO ($p < 0,001$).

Con respecto al peso de los órganos, no se detectaron diferencias significativas entre el grupo STD y CHLO (*Anexo 3*) en ninguno de los órganos estudiados (bazo, páncreas, yeyuno, íleon, intestino ciego, riñón derecho y izquierdo, tejido adiposo pardo, hígado, gastrocnemio (GAS), extensor largo de los dedos (EDL), mientras que los pesos del corazón entre ambos grupos presentaron una tendencia a ser diferente, que no alcanzó significación estadística ($p = 0,066$).

La ingesta de pienso y agua, y las excreciones de orina y heces se determinaron durante la semana 22, utilizando jaulas metabólicas durante la noche. Los resultados obtenidos fueron similares entre los grupos estudiados (*Figura 1(B)*).

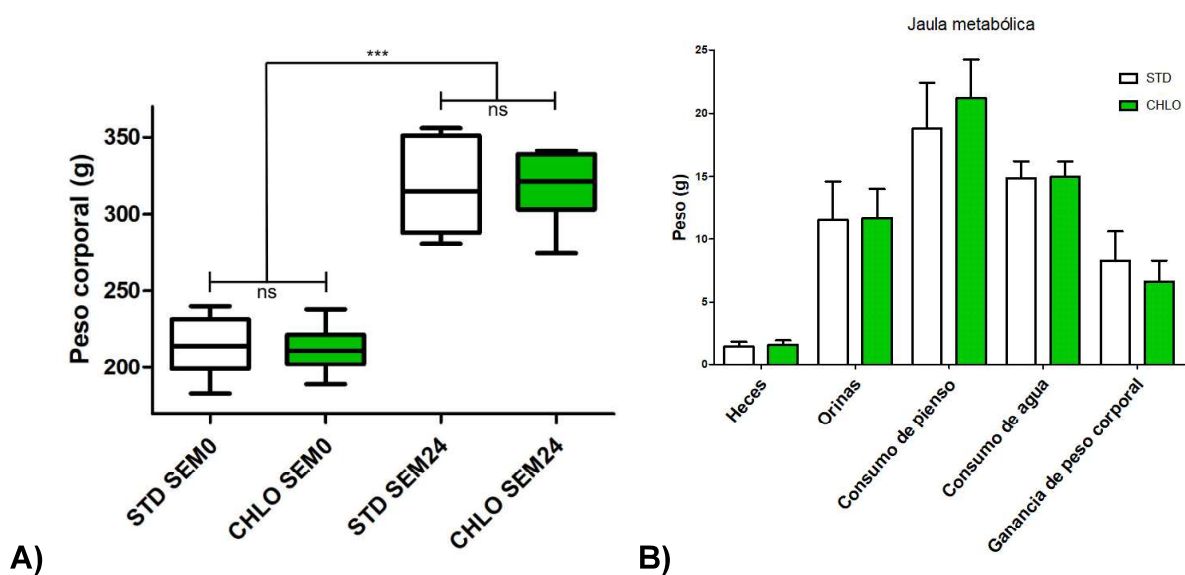


Figura 1: (A) Peso corporal. Comparación entre el peso corporal de las ratas alimentadas con dieta estándar (STD) y con dieta suplementada con *Chlorella* (CHLO) al inicio (SEM0) y al final de la intervención nutricional (SEM24). Los resultados se presentan como diagramas de caja (box-plots); $n = 9-10$ por grupo. Las comparaciones se realizaron mediante ANOVA y post-hoc de Tukey. (***) $p < 0,001$ para las comparaciones intragrupo (STD SEM0 vs. STD SEM24; CHLO SEM0 vs. CHLO SEM24). ns = no significativo para comparaciones intergrupo.

(B) Jaula metabólica. Los resultados se presentan como diagrama de barras verticales intercaladas, expresados como media $\pm$ SEM; $n = 9-10$ por grupo. Las comparaciones se realizaron mediante test de Mann-Whitney entre grupos: STD vs. CHLO para cada parámetro (heces, orina, consumo de pienso, consumo de agua, ganancia de peso corporal). Todos los valores de $p > 0,05$.

4.1.2 Test de tolerancia a la glucosa (TTGO) en ratas

El test de tolerancia a la glucosa (TTGO) se realizó durante la semana 20 de intervención nutricional. Se observaron diferencias significativas entre los grupos STD y CHLO ($p = 0,0350$) y entre los tiempos ($p < 0,0001$), mientras que no se encontró una interacción significativa entre ambos factores ($p = 0,9910$) durante los tiempos estudiados (0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos) (Figura 2).

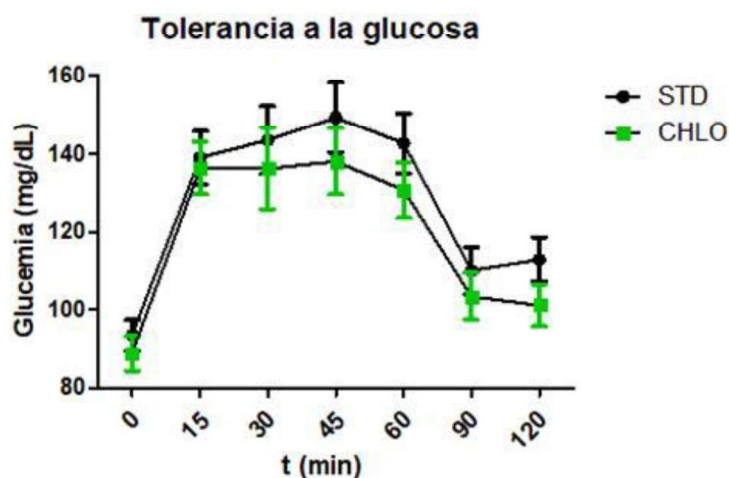


Figura 2: Tolerancia a la glucosa oral en ratas alimentadas con dieta estándar (STD) o *Chlorella* (CHLO) a los 0, 15, 30, 60, 90 y 120 min tras administración de glucosa intraperitoneal (1 g por kg de peso corporal). Resultados presentados como media $\pm$ SEM ($n = 10-9$ por grupo). ANOVA de dos vías y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

4.2. Intervención nutricional en humanos

Las mediciones de composición corporal se realizaron mediante bioimpedancia eléctrica (Tanita), lo que permitió obtener valores de masa grasa, masa libre de grasa y porcentaje de masa grasa. Asimismo, se evaluaron parámetros relacionados con la hidratación, como agua corporal total y su porcentaje, agua extracelular, agua intracelular, y otros datos como índice de masa corporal (IMC), metabolismo basal, grasa visceral, masa ósea, proteínas estimadas, e índice del metabolismo basal (*Tabla 3*).

Tabla 3: Composición corporal, determinada por impedancia multifrecuencia (Tanita).

Los datos se expresan como medias $\pm$ desviación estándar de la media (SEM); n = 18 por grupo:

Pre-Chlo Pre-HH: antes de suplementación con *Chlorella* y antes del estímulo hipobárico.

Pre-Chlo Post-HH: antes de suplementación con *Chlorella* y después del estímulo hipobárico.

Post-Chlo Pre-HH: después de suplementación con *Chlorella* y antes del estímulo hipobárico.

Post-Chlo Post-HH: después de suplementación con *Chlorella* y después del estímulo hipobárico.

ACT: agua corporal total

IMC: índice de masa corporal

Las comparaciones se realizaron mediante t test pareado entre todas las posibles combinaciones. Cada letra en superíndice corresponde a cuál de las 4 variantes resulta tener comparación pareadas significativas (t de Student pareado, $p < 0,05$), en concreto: (a) Pre-Chlo Pre-HH; (b) Pre-Chlo Post-HH; (c) Post-Chlo Pre-HH; (d) Post-Chlo Post-HH. Asteriscos en superíndice indican el nivel de significación de cada comparación: (*) $p \leq 0,01$; (**) $p \leq 0,001$; (***) $p \leq 0,0001$

Variable	Pre-Chlo Pre-HH	Pre-Chlo Post-HH	Post-Chlo Pre-HH	Post-Chlo Post-HH
Peso corporal (kg)	65,55 $\pm$ 9,80 ^{b**}	65,18 $\pm$ 9,78 ^{a**}	65,30 $\pm$ 9,99 ^{d***}	64,98 $\pm$ 9,92 ^{c***}
Masa Grasa (kg)	13,32 $\pm$ 4,70	13,34 $\pm$ 4,66 ^d	13,47 $\pm$ 4,75	13,21 $\pm$ 4,82 ^b
Porcentaje de masa Grasa (%)	20,28 $\pm$ 6,27	20,41 $\pm$ 6,24	20,09 $\pm$ 6,60	19,82 $\pm$ 6,75
Masa libre de Grasa (kg)	52,23 $\pm$ 8,79 ^{b**}	51,83 $\pm$ 8,75 ^{a**}	52,17 $\pm$ 9,21	52,10 $\pm$ 9,24
Agua Corporal Total (L)	37,63 $\pm$ 6,23 ^{b**}	37,34 $\pm$ 6,21 ^{a**}	37,62 $\pm$ 6,58	37,61 $\pm$ 6,65
ACT (%)	57,48 $\pm$ 4,94	57,37 $\pm$ 4,91 ^d	57,64 $\pm$ 5,20	57,91 $\pm$ 5,33 ^b
Agua Extracelular (L)	15,29 $\pm$ 2,35 ^{b**}	15,22 $\pm$ 2,36 ^{a**}	15,26 $\pm$ 2,42	15,24 $\pm$ 2,42
Agua Intracelular (L)	22,33 $\pm$ 3,96 ^b	22,12 $\pm$ 3,94 ^a	22,36 $\pm$ 4,26	22,36 $\pm$ 4,32
IMC (kg/m ²)	22,90 $\pm$ 2,02 ^{b***}	22,76 $\pm$ 2,02 ^{a***}	22,79 $\pm$ 2,14 ^{d***}	22,70 $\pm$ 2,12 ^{c***}
Metabolismo Basal (kcal)	1560,00 $\pm$ 238,26 ^{b**}	1549,28 $\pm$ 237,20 ^{a**}	1557,72 $\pm$ 249,34	1554,83 $\pm$ 250,15
Grasa Visceral (kg)	2,94 $\pm$ 2,31	2,89 $\pm$ 2,25	2,89 $\pm$ 2,22	2,72 $\pm$ 2,19
Masa Ósea (kg)	2,63 $\pm$ 0,42	2,62 $\pm$ 0,42	2,63 $\pm$ 0,43	2,63 $\pm$ 0,43
Masa Muscular (kg)	49,61 $\pm$ 8,37 ^{b**}	49,22 $\pm$ 8,33 ^{a**}	49,54 $\pm$ 8,77	49,47 $\pm$ 8,81
Índice del Metabolismo Basal	8,83 $\pm$ 1,04	8,83 $\pm$ 1,20	8,94 $\pm$ 1,16	9,00 $\pm$ 1,24
Proteínas (kg)	11,98 $\pm$ 2,25 ^{b***d}	11,88 $\pm$ 2,23 ^{a***}	11,92 $\pm$ 2,29 ^d	11,86 $\pm$ 2,27 ^{ac}

El peso corporal y el IMC (medida derivada del peso) de los voluntarios fue significativamente diferente antes y después de la exposición a hipoxia, tanto antes como después de la suplementación. También se observó, una tendencia marginalmente significativa en la comparación entre Pre-Chlo Pre-HH y Post-Chlo

Post-HH por ambos parámetros (peso corporal $p = 0,0606$ y IMC: $p = 0,0579$) (Figura 3 (A y B)).

Para proteínas, se encontraron diferencias significativas entre los valores registrados en el mismo día de intervención pre y post estímulo hipobárico tanto antes de la suplementación como después ($p < 0,0001$; $p = 0,0488$). Además, se encontró diferencia significativa entre Pre-chlo Pre-HH y Post-Chlo Post-HH ($p = 0,0424$) (Figura 3 (C)).

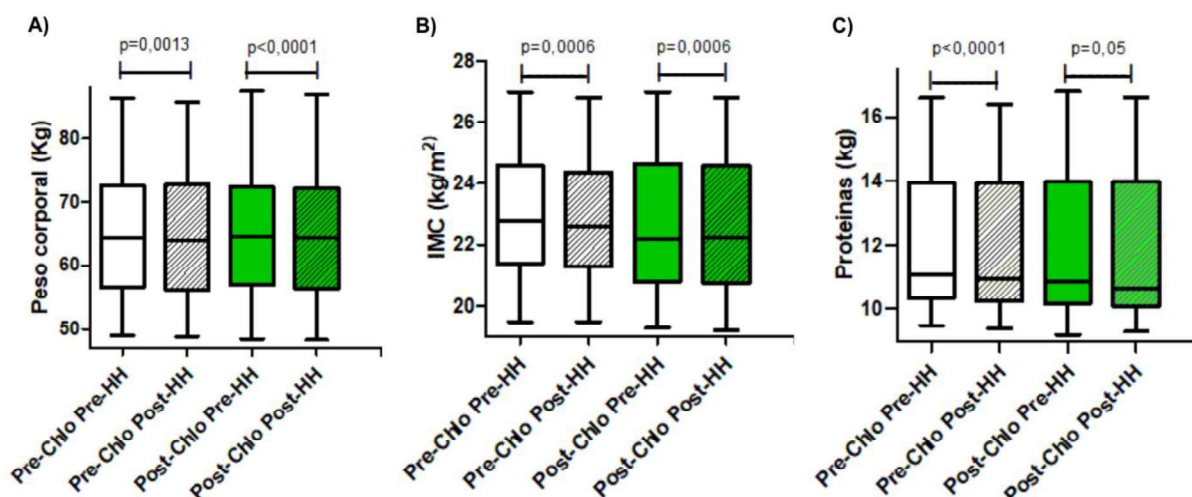


Figura 3: (A) Peso corporal, (B) Índice de masa corporal y (C) Proteínas estimadas medido por bioimpedancia en diferentes momentos del estudio experimental (Pre-Chlo Pre-HH, Pre-Chlo Post-HH, Post-Chlo Pre-HH y Post-Chlo Post-HH). Los resultados se expresan como diagramas de caja (box-plots); $n = 18$ por grupo. Las comparaciones se realizaron mediante test de Student pareado. Las barras horizontales indican comparaciones estadísticas específicas con sus valores p correspondientes

Masa libre de grasa, agua corporal total, agua extracelular, agua intracelular, metabolismo basal y masa muscular las únicas diferencias han presentado se han registrado antes de la suplementación (Pre-Chlo), en la comparación de los parámetros Pre-Chlo Pre-HH y Post-Chlo Post-HH (Figura 4).

En el caso de la masa grasa y el ACT, se observó una diferencia significativa entre los dos grupos medidos post estímulo hipobárico ($p = 0,0373$). La masa grasa (kg) también registró unas tendencias hacia la significación tanto entre Post-Chlo Pre-HH y Post-Chlo Post-HH ($p = 0,0641$) como entre Pre-Chlo Pre-HH y Post-Chlo Post-HH ($p = 0,0679$).

Para el porcentaje de masa grasa, se identificó una tendencia no significativa en la comparación entre los valores registrados post suplementación de *Chlorella* ($p = 0,0539$).

4.3. *Análisis encuesta nutricional*

Según los resultados de la encuesta el 89.5% consume 1-2 raciones de fruta al día y el 94.7% toma al menos una ración de verduras. Sin embargo, solo el 31.6% afirma que más de la mitad de lo que consume es de origen vegetal, indicando margen de mejora en este grupo alimentario. El 89.5% come una ración de legumbres, carne magra, pescado o huevos en comida y cena. No obstante, solo el 73.7% consume legumbres 3 o más veces por semana. Además, sólo el 42.1% consume frutos secos 3 veces a la semana o más. La mayoría (94.7%) cocina de manera saludable (horno, plancha, hervido) y utiliza aceite de oliva virgen en casa. Solo el 21.1% consume siempre cereales integrales, mostrando una baja incorporación de fibra. Un 57.9% consume bollería, dulces o snacks industriales varias veces por semana y el 26.3% desayuna productos procesados habitualmente. El 26.3% consume bebidas azucaradas al menos una vez por semana.

La mayoría de los participantes supo identificar las correctas fuentes de calcio y hierro, aunque con algunos errores. Prácticamente todos reconocen carnes, legumbres y frutos secos como ricos en proteína, aunque hay confusión con cereales y margarina. Se han notados más dudas respecto a reconocer los alimentos que contienen grasas insaturadas: los participantes reconocieron la presencia en nueces, aguacate, pescado y aceite de oliva, pero hubo errores en pollo y en algunos procesados.

5. DISCUSIÓN

5.1. Efectos fisiológicos de la dieta modificada con *Chlorella* en ratas

En el presente trabajo se evaluaron los efectos de la incorporación de *Chlorella vulgaris* al 10% en la dieta de ratas WKY durante 24 semanas, analizando peso corporal inicial y final, peso de órganos y tolerancia a la glucosa en ayunas.

La modificación de la dieta estándar para rata con *Chlorella* no ha modificado el peso corporal ni el de los órganos principales. Estos resultados divergen respecto a otros trabajos en los que se describen diferencias significativas en el peso de animales que consumen *Chlorella*, aunque la mayoría de estos estudios se realizaron en modelos de obesidad o con dietas cafetería. Por ejemplo, (Yang et al., 2022) suplementaron ratones C57BL/6J con ácidos grasos de *Chlorella* durante 16 semanas de dieta alta en grasa, observando 13,93% menos ganancia de peso que el grupo control. No se ha encontrado ningún estudio en modelos de ratas sanas alimentadas exclusivamente con distintos niveles de *Chlorella*, sin ninguna intervención adicional, que reporte diferencias significativas en el peso corporal final entre el grupo suplementado y el grupo control. Lee et al., (2008) administraron *Chlorella vulgaris* al 0%, 2,5%, 5% y 10% durante 28 días a ratas Wistar sin encontrar diferencias en ganancia de peso ni pesos de órganos. Parece que en general, en condiciones fisiológicas normales y en ausencia de otros factores externos que influyan en el peso, la introducción de *Chlorella* en la dieta no altera de manera significativa el peso corporal.

Respecto al peso de los órganos de ratas que han consumido *Chlorella*, nuestros resultados indican que el consumo de esta microalga a la dosis seleccionada (10%) es inocua para las ratas, ya que el peso de los órganos se utiliza ampliamente para estudiar la posible toxicidad de compuestos nutricionales, así como su actividad protectora (Latif et al., 2021; Farag et al., 2023; Michael et al., 2007). En contextos de toxicidad, *Chlorella* parece ejercer un efecto protector ayudando a mantener el peso de los órganos similar al de controles sanos.

Respecto a la ingesta y excreción, nuestros datos indican que *Chlorella* no altera la homeostasis metabólica en este modelo a la dosis estudiada (10%). Similarmente, en otros estudios sobre dietas que incorporaban *Chlorella*, no se han encontrado diferencias en estos parámetros metabólicos (Janczyk et al., 2007 ; Kim et al., 2009)

Con relación a la glicemia medida mediante el test de tolerancia a la glucosa, el consumo de *Chlorella* provocó un aplanamiento de la curva de glucosa y picos de

glucosa más leves en los animales que consumían esa dieta. Estudios similares confirman este efecto hipoglucemiante de la *Chlorella*: Horii et al., (2019) hallaron que ratas OLETF obesas suplementadas con 0,5% de *Chlorella vulgaris* durante 8 semanas reducían el área bajo la curva en la prueba de tolerancia a la glucosa frente al control sedentario. De manera similar, Abdella et al., (2023) demostraron que la administración de extracto de *Chlorella vulgaris* (10 mg/kg) durante 7 semanas en ratas diabéticas producía una reducción del 33% en el área bajo la curva del test de tolerancia a la glucosa en comparación con el grupo diabético sin suplemento. Estos hallazgos sugieren que la incorporación de *Chlorella* contribuye a atenuar los picos glicémicos, indicando una posible modulación de la sensibilidad a la insulina. Esto puede sugerir que la *Chlorella* puede favorecer la captación periférica de glucosa y mejorar la señalización de la insulina, lo que podría inducir beneficios para prevenir o mitigar la resistencia insulínica y el desarrollo de la diabetes tipo 2.

5.2. Efectos fisiológicos de la suplementación con *Chlorella* en humanos

En el segundo bloque del estudio, 18 voluntarios sanos recibieron 5 g/día de *Chlorella vulgaris* durante 21 días. Se evaluó la composición corporal por bioimpedancia antes y después de este periodo, valorando en ambas ocasiones los cambios provocados por 90 minutos de exposición a hipoxia hipobárica (4500 m).

En el presente trabajo, la muchas de las variables de bioimpedancia eléctrica estudiadas que presentaban diferencias antes y después de la exposición a hipoxia hipobárica se registraron en las mediciones Pre-Chlo. Entre ellas, aquellas que Post-Chlo no mostraron diferencias significativas antes y después de la exposición a hipoxia (masa libre de grasa, agua corporal total, agua extracelular, agua intracelular, metabolismo basal y masa muscular) (*Figura 4*) sugieren que la suplementación redujo los efectos estresores del estímulo hipóxico, manteniendo a los sujetos en un estado fisiológico similar al presentado a nivel del mar.

Muchas variaciones se conectan con la deshidratación relacionada a la hipoxia, particularmente en agua corporal, agua extracelular, agua intracelular, masa libre de grasa y masa muscular. En este contexto, la bioimpedancia multifrecuencia distingue el agua extracelular usando corrientes de 5-20 kHz y el agua intracelular con corrientes ≥ 200 kHz, calculando el volumen intracelular como diferencia entre agua corporal total y extracelular (Schlittler et al., 2021). El agua plasmática, que es parte del compartimento extracelular, es especialmente sensible a los cambios provocados por

hipoxia, lo que otorga gran relevancia a las modificaciones observadas en el agua extracelular (Gudivaka et al., 1999). Además, la masa libre de grasa contiene la mayor parte del agua y electrolitos corporales y también la masa muscular incluye un elevado un volumen de agua intracelular y extracelular (Kyle et al., 2001; Yamada et al., 2017).

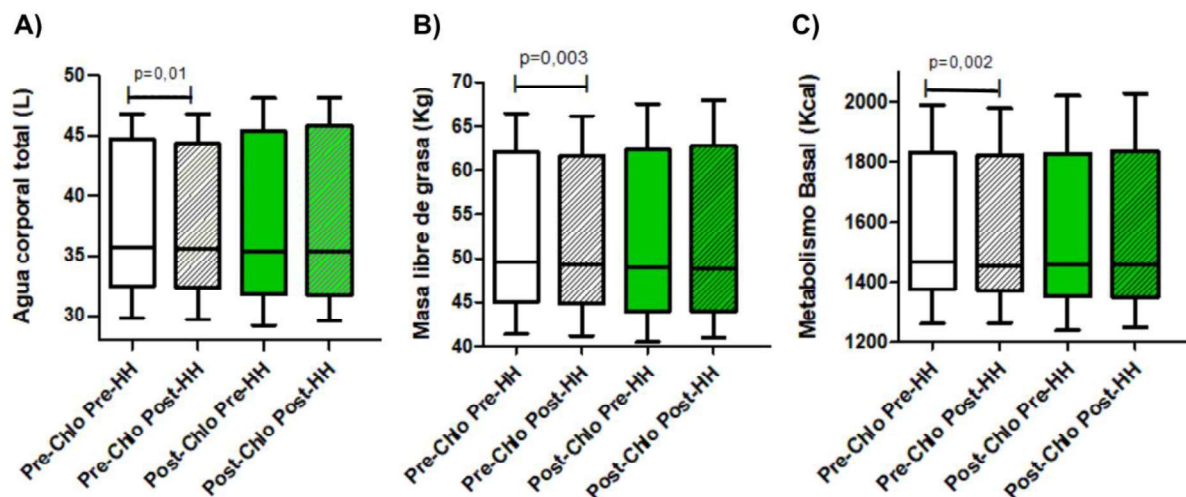


Figura 4: (A) Agua corporal total, (B) Masa libre de grasa y (C) Metabolismo basal medidas por bioimpedancia en diferentes momentos del estudio experimental (Pre-Chlo Pre-HH, Pre-Chlo Post-HH, Post-Chlo Pre-HH y Post-Chlo Post-HH). Los resultados se expresan como diagramas de caja (box-plots); $n = 18$ por grupo. Las comparaciones se realizaron mediante test de Student pareado. Las barras horizontales indican comparaciones estadísticas específicas con sus valores p correspondientes

El agua corporal tanto intracelular como extracelular, lo que la literatura científica espera es que disminuya, los datos muestran efectivamente este descenso, sobre todo en la fase Pre-Chlo. Esta pérdida se basa en diuresis y natriuresis inducidas hormonalmente, disminución de la ingesta voluntaria de sal y agua, y aumento de la pérdida insensible de agua (respiratoria y cutánea) (Dünnwald et al., 2019).

Los valores de masa muscular y pérdida de agua durante hipoxia disminuyen, actuando como moduladores de respuestas adaptativas agudas. El mecanismo detrás conlleva la activación de la vía AMPK, que inhibe mTORC1. Esta inhibición contribuye a una menor reabsorción de agua en los túbulos renales, promoviendo la excreción urinaria. Por lo tanto, mTORC1 cumple un papel esencial en mantener la capacidad de concentración urinaria: su bloqueo favorece la pérdida de agua a través de la orina (Chun & Kim, 2021). En cambio, la *Chlorella* parece que estimula la vía mTOR principalmente gracias a su alto contenido en proteínas de alta calidad y aminoácidos esenciales y leucina (Lorenzo et al., 2023). Esto a parte de promover la síntesis proteica muscular, parece que favorece el crecimiento y la regeneración de masa magra y puede contribuir a la retención de agua intracelular asociada al tejido magro (Chun & Kim, 2021; Lorenzo et al., 2023). En general, respecto a estos parámetros

relacionados con la deshidratación, la suplementación con *Chlorella* parece mitigar el efecto de la hipoxia.

En relación al metabolismo basal, según Dünwald et al., (2019), la exposición a hipoxia aguda provoca un incremento transitorio del metabolismo basal por activación simpática, mayor esfuerzo ventilatorio y termogénesis no temblorosa. Además, Cui et al. (2017) reportaron que exposiciones breves (<2 h) por encima de 3,000 m elevan el metabolismo basal, lo que sugiere que la intensidad y duración del estímulo deberían haber producido un aumento, no una reducción, en este parámetro. Sin embargo, en el presente estudio se observó una disminución del metabolismo basal (*Tabla 4*), la cual podría atribuirse al bajo nivel de actividad física de los voluntarios (que estuvieron sentados durante toda la sesión de hipoxia hipobárica), resultando en un gasto energético insuficiente para sostener tasa metabólica elevada. Además, las mediciones post-descenso podrían reflejar un hipometabolismo regulador para limitar ventilación después de la bajada (Dünwald et al., 2019). Gu & Jun (2018) concluyen que la hipoxia reduce la tasa metabólica corporal y celular, modulada por el grado de hipoxia, la temperatura ambiente, la masa corporal y el tipo celular, mientras que su efecto sobre la termorregulación en humanos sigue siendo incierto. Gu & Jun (2018) describen que AMPK activada por especies reactivas de oxígeno mitocondriales regula mecanismos que inducen el hipometabolismo celular. HIF-1 α desvía el piruvato a la glucólisis, se bloquea la cadena respiratoria reduciendo el flujo de electrones y se degrada la Na⁺/K⁺-ATPasa. Dipasquale et al., (2015) demostraron reducción de 0.15°C en temperatura rectal por cada 1% de disminución en SpO₂ durante exposiciones de 30 minutos a 12-14% O₂. Además, Savourey et al., (1996) reportaron disminución en la producción de calor metabólico en 11 sujetos tras 2 semanas a 4150-6885 m en los Andes. La caída del metabolismo basal fue significativa únicamente pre-suplementación, sugiriendo que *Chlorella* moduló parcialmente este ajuste hipometabólico. Considerando que el organismo prioriza sustratos que requieren menos oxígeno (cuerpos cetónicos y aminoácidos), optimizando eficiencia mitocondrial y producción de ATP con menor gasto oxidativo (Murray & Montgomery, 2014), la suplementación con *Chlorella* podría atenuar la caída del metabolismo basal en hipoxia aportando nutrientes que favorecen estas vías metabólicas eficientes, manteniendo función celular sin incrementar demanda de oxígeno.

La masa grasa total y porcentaje de masa grasa total mostraron tendencia marginalmente significativa Post-Chlo ($p=0,0641$ y $p=0,0539$) con una disminución pre/post estímulo hipobárico más marcada. Esta diferencia se podría atribuir que la hipoxia estimuló un mayor consumo y utilización de grasa durante el estímulo hipobárico, cuando ya, en esta circunstancia el metabolismo estaba dirigido en esta dirección. Estudios en ratas han demostrado que la suplementación con *Chlorella vulgaris* incrementa la excreción fecal de lípidos, triglicéridos y colesterol, reduciendo así las reservas lipídicas corporales (Lee et al., 2008b), y en cultivos de preadipocitos 3T3-L1 inhibe la acumulación de triglicéridos y promueve la apoptosis de estas células, frenando la adipogénesis (Chon et al., 2009).

Por otro lado, la masa grasa y ACT mostraron, como única pareja de valores con diferencias, los dos registrados Post-HH. Este resultado se considera normalmente esperable tras el estrés hipobárico (Dünnwald et al., 2019).

Peso corporal, IMC y proteínas mostraron diferencias tanto entre los dos valores Pre-Chlo, entre los dos valores que Post-Chlo (*Figura 3*), indicando menor influencia de la intervención inicial. Esta similitud entre los valores es esperable dado que el IMC se calcula en función del peso corporal. Sin embargo, el peso corporal mostró una diferencia considerablemente mayor Post-Chlo, posiblemente influenciado por menor cambio en agua corporal total tras el consumo de *Chlorella* durante 3 semanas. Otros estudios documentan que el peso corporal en hipoxia se asocia estrechamente con cambios en balance hídrico, donde la disminución del volumen plasmático y fluidos intersticiales e intracelulares contribuye directamente a variaciones ponderales observadas (Dünnwald et al., 2019; Westerterp, 2001a). El IMC mantuvo valores similares antes y después de suplementación, sugiriendo que cambios ponderales fueron proporcionalmente consistentes independientemente de la intervención nutricional.

El valor de proteínas mostró una notable mayor significancia Pre-Chlo. Este resultado puede interpretarse considerando que la hipoxia induce cambios complejos en metabolismo proteico, incluyendo incrementos en síntesis de proteínas miofibrilares hasta duplicar valores basales, así como aumentos en degradación proteica total (Westerterp, 2001b). La menor significancia Pre-Chlo respect que Post-Chlo podría reflejar el efecto estabilizador del suplemento sobre el turnover proteico durante estrés hipóxico, ya que la literatura documenta que *Chlorella* favorece síntesis proteica y

mitiga catabolismo muscular mediante mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios (Lorenzo et al., 2023).

Los parámetros que variaron significativamente tras el tratamiento combinado fueron solo las proteínas mientras que se notó una diferencia marginalmente significativa en IMC y peso corporales totales (respectivamente $p=0,0579$ y $p=0,0606$). Esto sugiere un posible efecto sinérgico entre la suplementación y la hipoxia, aunque también podría deberse a un artefacto estadístico.

Como limitaciones de la investigación, debe considerarse que la bioimpedancia es un método ágil de medición corporal, pero existen métodos más precisos y eficientes para medir cambios tan pequeños como los generados por una suplementación de solo 21 días (Fulco et al., 1992). Sería interesante evaluar también el estrés oxidativo y la influencia sobre microbiota. Se requieren más estudios para profundizar los mecanismos metabólicos y su influencia en el organismo humano.

6. CONCLUSIONES

En conclusión, el consumo de *Chlorella* modula la tolerancia a la glucosa de ratas que la consumen durante 6 meses. Esto sugiere que *Chlorella* puede favorecer la captación periférica de glucosa y mejorar la señalización de insulina, ofreciendo beneficios para prevenir la resistencia insulínica y diabetes tipo 2.

Respecto a la composición corporal, mientras que 6 meses de consumo de *Chlorella* no provocó cambios en el peso corporal ni de órganos en el modelo animal estudiado, sí que se observaron diferencias en parámetros corporales en la intervención nutricional realizada en humanos.

Por último, la suplementación con *Chlorella* atenuó parcialmente los efectos asociados a la exposición a hipoxia hipobárica, especialmente en parámetros relacionados con la deshidratación (agua corporal total, intracelular, extracelular, masa libre de grasa, masa muscular) y metabolismo basal.

Chlorella influye de manera moderada a múltiples niveles orgánicos, por lo que como ingrediente alimentario, en determinadas condiciones de dosis y frecuencia de consumo, podría ayudar a regular la sensibilidad insulínica o el balance hídrico, bajo condiciones de estrés fisiológico.

7. BIBIOGRAFIA:

1. Abdella, A., Abou-Elazm, F. I., & El-Far, S. W. (2023). Pharmacological Effects of *Lactobacillus casei* ATCC 7469 Fermented Soybean and Green Microalgae, *Chlorella vulgaris*, on Diabetic Rats. *Microbiology Research* 2023, Vol. 14, Pages 614-626, 14(2), 614–626. <https://doi.org/10.3390/MICROBIOLRES14020043>
2. Abreu, A. P., Martins, R., & Nunes, J. (2023). Emerging Applications of *Chlorella* sp. and *Spirulina* (*Arthrospira*) sp. *Bioengineering*, 10(8), 955. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING10080955>
3. Bito, T., Okumura, E., Fujishima, M., & Watanabe, F. (2020). Potential of *Chlorella* as a Dietary Supplement to Promote Human Health. *Nutrients*, 12(9), 2524. <https://doi.org/10.3390/NU12092524>
4. Cheng, H., Qin, Y. A., Dhillon, R., Dowell, J., Denu, J. M., & Pamerter, M. E. (2022). Metabolomic Analysis of Carbohydrate and Amino Acid Changes Induced by Hypoxia in Naked Mole-Rat Brain and Liver. *Metabolites*, 12(1), 56. <https://doi.org/10.3390/METABO12010056/S1>
5. Chon, J. W., Sung, J. H., Hwang, E. J., & Park, Y. K. (2009). *Chlorella* Methanol Extract Reduces Lipid Accumulation in and Increases the Number of Apoptotic 3T3-L1 Cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1171(1), 183–189. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2009.04895.X>
6. Chun, Y., & Kim, J. (2021). AMPK–mTOR Signaling and Cellular Adaptations in Hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9765. <https://doi.org/10.3390/IJMS22189765>
7. Cui, W., Wang, H., Wu, T., Ouyang, Q., Hu, S., & Zhu, Y. (2017). The influence of a low air pressure environment on human metabolic rate during short-term (< 2 h) exposures. *Indoor Air*, 27(2), 282–290. <https://doi.org/10.1111/INA.12305>
8. Dipasquale, D. M., Kolkhorst, F. W., & Buono, M. J. (2015). Acute normobaric hypoxia reduces body temperature in humans. *High Altitude Medicine and Biology*, 16(1), 61–66. <https://doi.org/10.1089/HAM.2014.1098;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION>
9. Dünwald, T., Gatterer, H., Faulhaber, M., Arvandi, M., & Schobersberger, W. (2019). Body composition and body weight changes at different altitude levels: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Physiology*, 10(MAR), 406627. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2019.00430/BIBTEX>

10. Farag, M. R., Alagawany, M., Mahdy, E. A. A., El-Hady, E., Abou-Zeid, S. M., Mawed, S. A., Azzam, M. M., Crescenzo, G., & Abo-Elmaaty, A. M. A. (2023). Benefits of *Chlorella vulgaris* against Cadmium Chloride-Induced Hepatic and Renal Toxicities via Restoring the Cellular Redox Homeostasis and Modulating Nrf2 and NF-KB Pathways in Male Rats. *Biomedicines*, 11(9), 2414. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES11092414/S1>
11. Food and Feed Information Portal Database | FIP. (n.d.). Retrieved August 30, 2025, from <https://ec.europa.eu/food/food-feed-portal/screen/novel-food-catalogue/search>
12. Fulco, C. S., Hoyt, R. W., Baker-Fulco, C. J., Gonzalez, J., & Cymerman, A. (1992). Use of bioelectrical impedance to assess body composition changes at high altitude. *Journal of Applied Physiology*, 72(6), 2181–2187. <https://doi.org/10.1152/JAPPL.1992.72.6.2181>
13. Gu, C., & Jun, J. C. (2018). Does Hypoxia Decrease the Metabolic Rate? *Frontiers in Endocrinology*, 9, 419754. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2018.00668/BIBTEX>
14. Gudivaka, R., Schoeller, D. A., Kushner, R. F., & Bolt, M. J. G. (1999). Single- and multifrequency models for bioelectrical impedance analysis of body water compartments. *Journal of Applied Physiology*, 87(3), 1087–1096. <https://doi.org/10.1152/JAPPL.1999.87.3.1087/ASSET/IMAGES/LARGE/JAPP05942004X.JPEG>
15. Hamanaka, R. B., & Chandel, N. S. (2009). Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling. *Current Opinion in Cell Biology*, 21(6), 894. <https://doi.org/10.1016/J.CEB.2009.08.005>
16. Horii, N., Hasegawa, N., Fujie, S., Uchida, M., Iemitsu, K., Inoue, K., & Iemitsu, M. (2019). Effect of combination of chlorella intake and aerobic exercise training on glycemic control in type 2 diabetic rats. *Nutrition*, 63–64, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.01.008>
17. Horscroft, J. A., & Murray, A. J. (2014). Skeletal muscle energy metabolism in environmental hypoxia: Climbing towards consensus. *Extreme Physiology and Medicine*, 3(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/2046-7648-3-19/TABLES/7>
18. Janczyk, P., Franke, H., & Souffrant, W. B. (2007). Nutritional value of *Chlorella vulgaris*: Effects of ultrasonication and electroporation on digestibility in rats. *Animal Feed Science and Technology*, 132(1–2), 163–169. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2006.03.007>

19. Kim, Y. J., Kwon, S., & Kim, M. K. (2009). Effect of *Chlorella vulgaris* intake on cadmium detoxification in rats fed cadmium. *Nutrition Research and Practice*, 3(2), 89. <https://doi.org/10.4162/NRP.2009.3.2.89>
20. Kyle, U. G., Genton, L., Karsegard, L., Slosman, D. O., & Pichard, C. (2001). Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20–94 years. *Nutrition*, 17(3), 248–253. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(00\)00553-0](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00553-0)
21. Latif, A. A. El, Assar, D. H., Elkaw, E. M., Hamza, H. A., Alkhalifah, D. H. M., Hozzein, W. N., & Hamouda, R. A. (2021). Protective role of *Chlorella vulgaris* with Thiamine against Paracetamol induced toxic effects on haematological, biochemical, oxidative stress parameters and histopathological changes in Wistar rats. *Scientific Reports*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/S41598-021-83316-8;SUBJMETA=45,61,631;KWRD=BIOCHEMISTRY,BIOTECHNOLOGY>
22. Lee, H. S., Park, H. J., & Kim, M. K. (2008a). Effect of *Chlorella vulgaris* on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet. *Nutrition Research and Practice*, 2(4), 204. <https://doi.org/10.4162/NRP.2008.2.4.204>
23. Lee, H. S., Park, H. J., & Kim, M. K. (2008b). Effect of *Chlorella vulgaris* on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet. *Nutrition Research and Practice*, 2(4), 204. <https://doi.org/10.4162/NRP.2008.2.4.204>
24. Lorenzo, K., Santocildes, G., Torrella, J. R., Magalhães, J., Pagès, T., Viscor, G., Torres, J. L., & Ramos-Romero, S. (2023). Bioactivity of Macronutrients from *Chlorella* in Physical Exercise. *Nutrients* 2023, Vol. 15, Page 2168, 15(9), 2168. <https://doi.org/10.3390/NU15092168>
25. Michael, B., Yano, B., Sellers, R. S., Perry, R., Morton, D., Roome, N., Johnson, J. K., Schafer, K., & Pitsch, S. (2007). Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity studies: a review of regulatory guidelines and a survey of current practices. *Toxicologic Pathology*, 35(5), 742–750. <https://doi.org/10.1080/01926230701595292;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>
26. Murray, A. J., & Montgomery, H. E. (2014). How wasting is saving: Weight loss at altitude might result from an evolutionary adaptation. *Bioessays*, 36(8), 721. <https://doi.org/10.1002/BIES.201400042>
27. Phukan, M. M., Chutia, R. S., Konwar, B. K., & Kataki, R. (2011). Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. *Applied Energy*, 88(10), 3307–3312. <https://doi.org/10.1016/J.APENERGY.2010.11.026>

28. Ramos-Romero, S., Torrella, J. R., Pagès, T., Viscor, G., & Torres, J. L. (2021). Edible Microalgae and Their Bioactive Compounds in the Prevention and Treatment of Metabolic Alterations. *Nutrients* 2021, Vol. 13, Page 563, 13(2), 563. <https://doi.org/10.3390/NU13020563>
29. Richmond, A., & Hu, Q. (2013). Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition*, 1–719. <https://doi.org/10.1002/9781118567166>
30. Rito, A. I., Dinis, A., Rascôa, C., Maia, A., Mendes, S., Stein-Novais, C., & Lima, J. (2019). Mediterranean Diet Index (KIDMED) Adherence, Socioeconomic Determinants, and Nutritional Status of Portuguese Children: The Eat Mediterranean Program. *Portuguese Journal of Public Health*, 36(3), 141–149. <https://doi.org/10.1159/000495803>
31. Savourey, G., Guinet, A., Besnard, Y., Garcia, N., Hanniquet, A. M., & Bittel, J. (1996). General and local cold responses in humans after 2 weeks at high altitude. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 75(1), 28–33. <https://doi.org/10.1007/S004210050122/METRICS>
32. Schlittler, M., Gatterer, H., Turner, R., Regli, I. B., Woyke, S., Strapazzon, G., Rasmussen, P., Kob, M., Mueller, T., Goetze, J. P., Maillard, M., van Hall, G., Feraille, E., & Siebenmann, C. (2021). Regulation of plasma volume in male lowlanders during 4 days of exposure to hypobaric hypoxia equivalent to 3500 m altitude. *The Journal of Physiology*, 599(4), 1083–1096. <https://doi.org/10.1113/JP280601>
33. Vázquez-Espino, K., Fernández-Tena, C., Lizarraga-Dallo, M. A., & Farran-Codina, A. (2020). Development and Validation of a Short Sport Nutrition Knowledge Questionnaire for Athletes. *Nutrients* 2020, Vol. 12, Page 3561, 12(11), 3561. <https://doi.org/10.3390/NU12113561>
34. Viscor Carrasco, G., Torrella Guio, J. R., & Pagés, T. (2020). Un ejemplo de respuesta adaptativa integrada: la aclimatación humana a la altitud. *Articles Publicats En Revistes (Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia)*. <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/168806>
35. Wang, C. A., Onyeaka, H., Miri, T., & Soltani, F. (2024a). Chlorella vulgaris as a food substitute: Applications and benefits in the food industry. *Journal of Food Science*, 89(12), 8231. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17529>

36. Westerterp, K. R. (2001). Energy and water balance at high altitude. *News in Physiological Sciences*, 16(3), 134–137. <https://doi.org/10.1152/PHYSIOLOGYONLINE.2001.16.3.134;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:PHYSIOLOGYONLINE;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>
37. Yang, Y., Ge, S., Chen, Q., Lin, S., Zeng, S., Tan, B. K., & Hu, J. (2022). Chlorella unsaturated fatty acids suppress high-fat diet-induced obesity in C57/BL6J mice. *Journal of Food Science*, 87(8), 3644–3658. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16246>
38. Yarmohammadi, S., Hosseini-Ghatar, R., Foshati, S., Moradi, M., Hemati, N., Moradi, S., Kermani, M. A. H., Farzaei, M. H., & Khan, H. (2021). Effect of Chlorella vulgaris on Liver Function Biomarkers: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical Nutrition Research*, 10(1), 83. <https://doi.org/10.7762/CNR.2021.10.1.83>

ANEXOS

Anexo 1: Composición nutricional de las dos variedades de *Chlorella* usada en la suplementación en voluntarios

ANÁLISIS NUTRICIONAL GENERAL		
Componente Nutricional	Chlorella Blanca	Chlorella Dorada
Valor energético (kcal/100g)	386	370
Grasas (g/100g)	11,9	6,7
Saturadas (g/100g)	2,7	1,1
Hidratos de carbono (g/100g)	14,2	19
Hidratos de carbono disponibles(g/100g)	0,0	0,0
Fibra alimentaria (g/100g)	14,6	23,4
Proteínas (g/100g)	61,13	65,81
Sal (g/100g)	0,024	0,015
Cenizas (g/100g)	7,3	4,2
Humedad (g/100g)	4,3	4,5
Ratio Proteína digerible con pepsina (%)	87,9	99,1
Sodio (mg/100g)	9,5	5,8
Fósforo (mg/100g)	3078	2680
Hierro (mg/100g)	10,3	9,14
Calcio (mg/100g)	20,6	14,7
Potasio (mg/100g)	632	903
Magnesio (mg/100g)	422	334
Cobre (mg/100g)	0,37	0,41
Zinc (mg/100g)	24,6	26,7
Manganeso (mg/100g)	22,1	35,6
Vitamina A (equiv. de actividad de retinol) (µg/100g)	-	20
α-caroteno (µg/100g)	ND	47
β-caroteno (µg/100g)	7	222
Tiamina (Vitamina B1) (mg/100g)	6,59	3,90
Riboflavina (Vitamina B2) (mg/100g)	1,98	2,21
Niacina (Vitamina B3) (mg/100g)	28,6	20,3
Ácido pantoténico (Vitamina B5) (mg/100g)	3,84	2,13
Vitamina B6 (µg/100g)	0,58	0,94
Biotina (Vitamina B7) (µg/100g)	7,8	14,8
Ácido fólico (Vitamina B9) (mg/100g)	1,5	1,3
Vitamina B12 (µg/100g)	266	247
Ácido ascórbico total (Vitamina C) (mg/100g)	30,8	54,7
Vitamina E (α-tocoferol) (mg/100g)	ND	10,2
Filoquinona (Vitamina K1) (µg/100g)	ND	39
Inositol (mg/100g)	435	449
Luteína (mg/100g)	0,1	20,1
Colina (g/100g)	0,41	0,4

AMINOÁCIDOS TOTALES		
Aminoácido (g/100g)	Chlorella Blanca	Chlorella Dorada
Histidina	0,80	0,87
Isoleucina	1,27	1,37
Leucina	3,06	3,2
Lisina	2,11	2,18
Metionina	0,71	0,64
Fenilalanina	1,42	1,56
Treonina	1,61	1,86
Triptófano	0,58	0,62
Valina	2,13	2,26
Alanina	3,33	3,61
Arginina	9,29	7,72
Ácido aspártico	2,92	3,2
Cistina	0,60	0,83
Ácido glutámico	9,55	12,5
Glicina	2,03	2,35
Prolina	1,67	1,95
Serina	1,55	1,79
Tirosina	1,09	1,12
COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS		
Ácido Graso (%)	Chlorella Blanca	Chlorella Dorada
14:0 (Ácido mirístico)	3,0	1,1
15:0 (Ácido pentadecílico)	-	0,2
16:0 (Ácido palmítico)	19,1	19,7
16:1 (Ácido palmitoleico)	0,6	0,4
16:3 (Ácido hexadecatrienoico)	-	0,2
18:0 (Ácido esteárico)	2,7	0,6
18:1 (Ácido oleico)	21,1	9,3
18:2n-6 (Ácido linoleico)	50,0	52,8
18:3n-3 (ácido α-linolénico)	1,3	14,9
20:1 (Ácido eicosenoico)	0,2	0,1
24:0 (Ácido linocérico)	1,3	0,5

Anexo 2: Encuesta nutricional

Item	Pregunta	Criterio	P*
1	Como 1-2 raciones de fruta/día.	+1	
2	Como 1 o más raciones de vegetales crudos o cocidos/día.	+1	
3	Como 1 ración en comida y otra en cena de legumbres o carnes (pollo, pavo o conejo u otras carnes magras), pescados y/o huevos.	+1	
4	Más de la mitad de la comida que consumo es de origen vegetal (frutas, verduras, legumbres, frutos secos, patatas y cereales integrales).	+1	
5	Cuando consumo carne magra, pescados y/o huevos son generalmente frescos y mínimamente procesados.	+1	
6	Consumo alimentos precocinados o fast-food como pizzas y hamburguesas una o más veces a la semana.	-1	
7	Como 3 o más raciones de legumbres (lentejas, alubias y garbanzos) a la semana.	+1	
8	En casa generalmente los alimentos se cocinan al horno, a la plancha (en una sartén con poco aceite) o cocidos (no se usa una sartén).	+1	
9	Cuando como cereales (pasta, arroz, cuscús, quinoa) siempre son integrales.	+1	
10	Consumo una ración de frutos secos crudos o tostados sin sal al menos 3 veces a la semana.	+1	
11	En casa se usa aceite de oliva virgen (verde oscuro) en lugar de aceite de girasol (amarillo).	+1	
12	Bebo bebidas refrescantes azucaradas comerciales, zumos comerciales y/o batidos una o más veces a la semana.	-1	
13	Cuando consumo 1 ración de lácteos siempre son naturales (leche, yogur sin azúcar, queso fresco) o mínimamente procesados.	+1	
14	Cuando desayuno como pastas, galletas, zumos comerciales, smoothies o alimentos procesados.	-1	
15	Cuando desayuno consumo alimentos no procesados o mínimamente procesados (fruta, frutos secos, huevos o pan de trigo integral).	+1	
16	Como masas industriales (caramelos, galletas, snacks o chocolate) y dulces (postres crujientes, gominolas, caramelos o mermeladas) varias veces a la semana.	-1	

*P: Puntuación.

Interpretación: Rango puntuación: 0-12.

Puntuación ≥ 8 : Calidad dietética buena.

Puntuación 4-7: Calidad dietética intermedia.

Puntuación ≤ 3 : Calidad dietética baja.

NUKYA: por saber el conocimiento sobre nutrición deportiva de los participantes.

Este test consiste en cuestiones de distintos aspectos de nutrición deportiva.

1.1. ¿Estos alimentos tienen un contenido alto o bajo en hidrato de carbono complejos? Para cada alimento, elige una de las 3 opciones (Alto, Bajo, No lo sé / No estoy seguro/a)

	Alta	Baja	No lo sé / No estoy seguro/a
1.1 Pollo	☐	☐	☐
1.2 Miel	☐	☐	☐
1.3 Habas (legumbres)	☐	☐	☐
1.4 Pan	☐	☐	☐
1.5 Mermelada	☐	☐	☐
1.6 Mantequilla	☐	☐	☐
1.7 Cereales de desayuno	☐	☐	☐
1.8 Arroz	☐	☐	☐
1.9 Caramelos	☐	☐	☐

2. ¿Un deportista que quiere perder peso debería eliminar completamente los hidratos de carbono de su dieta?

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

3. ¿Los hidratos de carbono se almacenan en el músculo en forma de glucógeno? Elige una opción

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

4. ¿El músculo utiliza la proteína como principal fuente de energía durante el ejercicio?

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

5. ¿Estos alimentos tienen un contenido alto o bajo en proteína? Para cada elección una de las 3 opciones (Alto, Bajo, No lo sé / No estoy seguro/a)

	Alto	Bajo	No lo sé / No estoy seguro/a
5.1 Pollo	☐	☐	☐
5.2 Habas (legumbres)	☐	☐	☐
5.3 Fruta	☐	☐	☐
5.4 Margarina / Mantequilla	☐	☐	☐

5.5 Cereales de desayuno	☐	☐	☐
5.6 Nuevos	☐	☐	☐

6. ¿Las grasas tienen un papel importante en el cuerpo?

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

7. ¿Las grasas saturadas e insaturadas tienen el mismo impacto en la salud?

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

8. ¿Estos alimentos tienen un contenido alto o bajo en grasas insaturadas? Para cada elección una de las 3 opciones (Alto, Bajo, No lo sé / No estoy seguro/a)

	Alto	Bajo	No lo sé / No estoy seguro/a
8.1 Pollo	☐	☐	☐
8.2 Nuevos	☐	☐	☐
8.3 Aguacate	☐	☐	☐
8.4 Pescado y marisco	☐	☐	☐
8.5 Quesos	☐	☐	☐
8.6 Salchichas	☐	☐	☐
8.7 Cereales de desayuno	☐	☐	☐
8.8 Lechuga	☐	☐	☐
8.9 Aceite de oliva o girasol	☐	☐	☐

9. ¿Cuántas raciones de fruta y verdura se recomienda comer al día? Una ración equivale a una pieza de fruta o un cuenco de ensalada o verduras. (Elige una opción)

- ☐ 1 o 2 al día
- ☐ 3 o 4 al día
- ☐ 5 o + día
- ☐ No lo sé / No estoy seguro/a

10. ¿Estas afirmaciones son ciertas o falsas?

a. Tu rendimiento deportivo disminuirá si pierdes un 2% de tu peso corporal (por ejemplo, 1,5 kg si pesas unos 75 kg) a causa de la pérdida de agua.

☐ Cierto	☐ Falso	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
---------------------------------	--------------------------------	---

b. Para estar bien hidratado durante el entrenamiento deportivo, es necesario esperar a tener sed para beber.

☐ Cierto	☐ Falso	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
---------------------------------	--------------------------------	---

c. Para rehidratarse completamente después del ejercicio, es necesario beber un volumen de líquido superior al volumen de agua perdido durante el ejercicio (que se puede conocer pesándose antes y después del entrenamiento o competición).

☐ Cierto	☐ Falso	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
---------------------------------	--------------------------------	---

d. El zumo de fruta es una bebida adecuada para consumir durante el entrenamiento o en medio de un partido.

☐ Cierto	☐ Falso	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
---------------------------------	--------------------------------	---

e. Las bebidas energéticas como el Red Bull están recomendadas para los deportistas durante el ejercicio.

☐ Cierto	☐ Falso	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
---------------------------------	--------------------------------	---

11. ¿Cuál crees que es el color de orina más adecuado antes de empezar a entrenar? (Elige una opción).

- ☐ Transparente
- ☐ Amarillo pálido / (Zumo de limón)
- ☐ Amarillo fuerte / (Zumo de manzana)
- ☐ No estoy seguro/a / No lo sé

12. ¿Durante el ejercicio prolongado en el tiempo o intenso cuál es la mejor manera de recuperar el agua perdida en forma de sudor? (Elige una opción):

- ☐ Agua sola

- ☐ Agua y sales minerales
- ☐ Agua y carbohidratos
- ☐ Agua, carbohidratos y minerales
- ☐ No estoy seguro/a / No lo sé

13. El porcentaje de carbohidratos en una bebida isotónica deportiva debería ser (Elige una opción):

- ☐ 4-6%
- ☐ 6-8%
- ☐ 8-10%
- ☐ 10-12%
- ☐ No estoy seguro/a / No lo sé

14. ¿Qué momento es el óptimo para comer y beber algo para poner en marcha la recuperación después de un ejercicio o competición? (Elige una opción):

- ☐ Tan pronto como sea posible (durante las primeras dos horas después del ejercicio)
- ☐ Entre la 2a y 3a hora después del ejercicio
- ☐ Después de la 3ª hora post ejercicio
- ☐ Cuando tengo hambre
- ☐ No estoy seguro/a / No lo sé

15. El nutriente o nutrientes más importantes a ingerir después del entrenamiento es/son:

- ☐ Agua
- ☐ Carbohidratos
- ☐ Proteínas
- ☐ Grasa
- ☐ Agua + Carbohidratos + Proteínas
- ☐ No estoy seguro/a / No lo sé

16. ¿La última comida principal (desayuno, almuerzo o cena) debería ser ingerida al menos 3-4 horas antes de competir o de realizar ejercicio? (Elige una opción)

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

17. ¿El cuerpo humano puede obtener la mayor parte de la vitamina D a partir de la exposición al sol? (Elige una opción)

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

18. ¿Las vitaminas y los minerales son una buena fuente de energía? (Elige una opción)

☐ Sí	☐ No	☐ No lo sé / No estoy seguro/a
-----------------------------	-----------------------------	---

19. ¿Estos alimentos son una buena fuente de hierro?

	Alto	Bajo	No estoy seguro/a / No lo sé
19.1 Aguacate	☐	☐	☐
19.2 Carne (en general)	☐	☐	☐
19.3 Pescado	☐	☐	☐
19.4 Habas (legumbres)	☐	☐	☐
19.5 Espinacas	☐	☐	☐
19.6 Nuevos	☐	☐	☐
19.7 Pan	☐	☐	☐
19.8 Mantequilla	☐	☐	☐

20. ¿Estos alimentos son una buena fuente de calcio?

	Alto	Bajo	No estoy seguro/a / No lo sé
20.1 Fruta	☐	☐	☐
20.2 Carne	☐	☐	☐
20.3 Almendras	☐	☐	☐
20.4 Leche	☐	☐	☐
20.5 Espinacas	☐	☐	☐
20.6 Queso	☐	☐	☐
20.7 Pan	☐	☐	☐
20.8 Mantequilla	☐	☐	☐

Anexo 3:

Peso de los órganos. Comparación entre el peso corporal de las ratas alimentadas con dieta estándar (STD) y con dieta suplementada con Chlorella (CHLO). Los datos se expresan como medias $\pm$ desviación estándar de la media (SEM); n = 9-10 por grupo. Las comparaciones se realizaron mediante t test.

EDL extensor digital larga (músculo); GAS gastrocnemio (músculo)

Variable (g)	STD	CHLO
Bazo	1,074 $\pm$ 0,645	0,716 $\pm$ 0,084
Páncreas	0,721 $\pm$ 0,202	0,671 $\pm$ 0,121
Yeyuno	4,02 $\pm$ 0,441	3,687 $\pm$ 0,406
Íleo	2,95 $\pm$ 0,295	3,221 $\pm$ 0,546
Ciego	2,337 $\pm$ 0,856	2,827 $\pm$ 0,625
Riñón izquierdo	0,921 $\pm$ 0,107	0,902 $\pm$ 0,089
Riñón derecho	0,93 $\pm$ 0,123	0,95 $\pm$ 0,14
Riñón total	1,851 $\pm$ 0,225	1,667 $\pm$ 0,618
grasa perigonadal izquierda	6,654 $\pm$ 1,93	5,807 $\pm$ 1,532
grasa perigonadal derecha	6,694 $\pm$ 1,798	5,529 $\pm$ 1,359
grasa perigonadal total	13,348 $\pm$ 3,541	10,202 $\pm$ 4,478
Hígado	7,234 $\pm$ 0,808	7,332 $\pm$ 0,854
Corazón	0,782 $\pm$ 0,07	0,724 $\pm$ 0,07
GAS	1,786 $\pm$ 0,156	1,745 $\pm$ 0,169
EDL	0,126 $\pm$ 0,021	0,134 $\pm$ 0,013