

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
POSTGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**



ESTUDIO DE INTERVENCIÓN SOBRE ESTADO ANÍMICO Y MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN UNA POBLACIÓN SANA QUE CONSUME CHOCOLATE ENRIQUECIDO CON TRIPTÓFANO Y RESVERATROL.

Tesis Doctoral presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela por la M.Sc. JENNYFER FLOREZ MENDEZ para optar al título de Doctor en Ciencias. Mención Ciencia y Tecnología de alimentos.

Tutor: Dra. Elevina Perez

Dra. Mary Lares

Caracas – Venezuela
Marzo de 2017

DEDICATORIA

A Dios quien guía mis pasos. Dios contigo todo!

A mi nona Ofelia, por ser como eres... Gracias! este triunfo es para ti.

A mi tía Dayra y a mi Tío Fabián, porque aunque no lo sepan directamente, cada día aprendo de Uds. me dejan una lección y millones de enseñanzas.

A los motores de mi vida Papá y Mamá, por ellos todo este esfuerzo vale la pena, por ellos me levantaba temprano y me acostaba a dormir tarde, todos los santos días en los que desarrolle mi tesis Doctoral, por fin tienen una Doctora en Casa.

A mis compañeros de vida, mis hermanos, sin más que agradecer por estar siempre allí, son los amores de mi vida.

A una persona que me apoyo con sonrisas y compañía, además del trabajo que como mío fue suyo, Martha Gonzales, excelente profesional, docente y mejor amiga imposible! te quiero...

A mi segunda familia, los Caraqueños, hermosos, los amo, gracias por soportarme durante todo este tiempo, me han dejado muchas experiencias de vida, Uds. son los profesores del "Doctorado de la vida" que hice recibiendo de cada uno de Uds. muchísimas enseñanzas.

A mi tutora, profesora y amiga Elevina Pérez, gracias por guiarme cada paso, desde la maestría, ahora ya terminando con este Doctorado, tu apoyo fue incondicional y muy necesario en cada uno de estas etapas, gracias por tu guía oportuna siempre.

A mi precioso, sabes que fue difícil recorrer este camino tan largo juntos, por eso y más, muchas gracias por tu apoyo, por amarme tanto.

A todos los soñadores, porque los sueños se hacen realidad...

A JF... A mi guitarra...

AGRADECIMIENTOS

A la ilustre Universidad Central de Venezuela por abrirme sus puertas para tan considerado logro.

A todo el grupo docente y administrativo del ICTA que apoyaron mi instrucción para adquirir este preciado título, especialmente:

A mis amigos y colegas del ICTA Miguel Morón, Xiulingy Méndez, Oriana Melo, Jennifer Rodríguez, Wilder Ángel, Alexandra Zambrano, María Isabel Calderón y Víctor Márquez gracias por su apoyo laboral y moral, los llevo en mi corazón.

A mis tutoras Dra. Elevina Pérez y Dra. Mary Lares quienes guiaron todo mi trabajo de Tesis Doctoral, representándome con todo el profesionalismo que las caracteriza, muchas gracias por todo su apoyo y conocimientos compartidos.

Al Dr. Amaury Martínez por todo el asesoramiento prestado durante la realización de mi tesis Doctoral compartiendo todo su profesionalismo siempre.

A Dr. Carlos Ciangherotti por su colaboración antes y durante el estudio de intervención, así como también por su participación en la realización de algunos análisis.

A la facultad de Ciencias, Escuela de Química, Dra. María Rodríguez, Dr. Jairo Bermúdez y Dr. Manuel Fermín por estar siempre a disposición para el desarrollo de algunos análisis de la tesis.

Al laboratorio de Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) ubicado en el estado Miranda, especialmente al Dr. Clímaco Alvares por apoyarme durante todo este proceso.

A las Docentes de la Universidad Simón Bolívar Dra. Alexia Torres y Dra. Aura Cova por su colaboración en la realización de algunos análisis de la Tesis.

A empresas POLAR, centro de investigación de Calidad Dra. Graciela Troncone por la colaboración prestada en la determinación de algunos análisis y en su nombre empresas POMAR Ing. José Ballesteros por facilitarme unas

de las materias primas indispensable para el desarrollo de las tabletas de chocolate.

A Chocolates Kirikire por apoyarme con la materia prima para la realización de las tabletas de Chocolate, resultados reflejados en la excelente calidad del Cacao captado por los panelistas durante la evaluación sensorial del Chocolate final.

Al IDEA, por su aporte económico para la realización de uno de los análisis más importantes de la Tesis Doctoral.

Al Hospital Militar “Carlo Arvelo”, especialmente a la Dra. Sara Brito y demás Doctores del servicio que participaron y colaboraron en el desarrollo de la Tesis.

A Ingenios Chocolate, KKO Real, Chocolates Kirikire y Alimentos Doce, por permitirme y dirigirme la capacitación en el área de la Chocolatería en sus instalaciones.

A mi amigo y colega Dr. Manuel Fermín, Gracias tanto por tu amistad, por tu paciencia, por tus enseñanzas, en realidad me dejaste mucho tanto personal como profesionalmente.

A mis pacientes, panelistas y catadores, gracias por su participación!

*Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la
energía atómica: LA VOLUNTAD.*

(Albert Einstein)

Los sueños... se hacen realidad!

(Jennyfer Flórez Méndez)

RESUMEN

La función de los antioxidantes naturales; tales como flavonoides, se asocia con su acción protectora en prevención y desarrollo de diversas patologías identificadas colectivamente como patologías por estrés oxidativo. A los flavonoides se les reconoce la capacidad de atrapar radicales libres; se encuentran en vegetales, semillas y frutas. En la uva se encuentra principalmente el resveratrol que se localiza especialmente en células epidérmicas (piel) y en las semillas; por su parte, el triptófano es precursor de la serotonina, implicada en el apetito, placer, comportamiento social, ansiedad y depresión. El maní y chocolate son excelentes fuentes de triptófano. En este estudio se formuló y elaboró una tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol, utilizando maní y residuos procesados de la agroindustria como ingredientes principales para potenciar sus niveles en compuestos fitoquímicos. Para evaluar el efecto de su consumo se realizó un estudio de intervención sobre estado anímico y marcadores de estrés oxidativo en una población sana de 10 individuos adultos evaluados antes y después del consumo de 15 g del mismo durante 21 días. A cada sujeto en ayuno se le evaluó glicemia, creatinina, triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, ácido úrico, insulina, estrés oxidativo (8-Isoprostano (8-iso PGF₂α) y catalasa), del mismo modo cada paciente fue evaluado por medio del test de depresión de Beck. Los resultados mostraron la factibilidad de elaborar un chocolate de excelente calidad y aceptabilidad por parte de un panel evaluador e indican cambios significativos ($P \leq 0,05$) en los marcadores de estrés oxidativo e insulina posiblemente por el efecto de los polifenoles presentes (1387,39 mg EAG/100 g); el EC₅₀ del chocolate fue de 36,25 g/gDPPH; la evaluación psicológica no indicó ningún cambio significativo en el estado de ánimo de los individuos. Se concluye que el chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol podría tener los efectos beneficiosos para la salud relacionados con la disminución de 8-isoprostano, insulina y aumento de catalasa que pueden incidir en la prevención de enfermedades tales como el síndrome metabólico y diabetes debido a la disminución del estrés oxidativo.

Palabras claves: *Antioxidante. Cacao. Flavonoides. Resveratrol. Triptófano.*

INDICE

JUSTIFICACION	1
1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo general	7
2.2 Objetivos específicos	7
3. REVISION BIBLIOGRAFICA	8
3.1 ESTRÉS OXIDATIVO	8
3.2 SINDROME METABOLICO	9
3.3 DIABETES	11
3.3 FLAVONOIDES	12
3.4 IMPORTANCIA DEL CACAO EN LA SALUD	16
3.2 EFECTOS DEL CHOCOLATE EN LA SALUD CARDIOVASCULAR	23
3.3 IMPORTANCIA DEL RESVERATROL EN LA SALUD	28
3.3.1 RESVERATROL Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE	30
3.3.2 RESVERATROL Y ALZAIMER	30
3.3.3. RESVERATROL Y EPILEPSIA	31
3.3.4 RESVERATROL Y ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES.....	32
3.3.5 RESVERATROL Y CANCER	33
3.3.6 ALIMENTOS RICOS EN RESVERATROL.....	34
3.3.7 METABOLISMO NEUROPROTECTOR DEL RESVERATROL Y SU EFECTO CONTRA EL ENVEJECIMIENTO.....	36
3.4 IMPORTANCIA DEL TRIPTOFANO EN LA SALUD	38
3.4.1 TRIPTÓFANO Y ESTADOS DEPRESIVOS.....	39
3.4.2 TRIPTÓFANO E INSOMNIO.....	40
3.4.3 METABOLISMO DEL TRIPTOFANO	40
3.4.4 SEROTONINA.....	44
3.4.5 ALIMENTOS RICOS EN TRIPTOFANO	46
3.5 ESTUDIO DE INTERVENCION	49
3.5.1 BIOÉTICA.....	49
3.5.2 PARAMETROS BIOQUIMICOS	50
3.5.2.1 QUIMICA CLINICA.....	52
5.2.3 TECNICA DE ELISA	58
4. MATERIALES Y MÉTODOS	63

4.1 OBTENCION Y CARACTERIZACION DE LA MATERIA PRIMA.....	63
4.1.1 PIEL Y SEMILLAS DE UVAS	63
4.1.1.1 Obtención de harina	63
4.1.1.2 Determinación de humedad (%).....	64
4.1.1.3 Determinación de ceniza	64
4.1.1.4 Determinación de Actividad de agua.....	64
4.1.2 MANI.....	65
4.1.2.1 Obtención de pasta de maní	65
4.1.2.2 Determinación de humedad (%).....	65
4.1.2.3 Determinación de proteína	65
4.1.2.4 Determinación de grasa	66
4.1.2.5 Determinación de ceniza	66
4.1.2.6 Determinación Carbohidratos Totales	66
4.1.2.7 Determinación de Actividad de agua.....	66
4.2 METODOLOGIA	66
4.2.1 Proceso de producción.....	67
4.3. PRODUCTO FINAL	69
4.3.1 COMPOSICIÓN PROXIMAL.....	70
4.3.1.1 Determinación de humedad (%).....	70
4.3.1.2 Determinación de grasa	70
4.3.1.3 Determinación de proteína	70
4.3.1.4 Determinación de la actividad de agua (Aw)	70
4.4 PERFIL LIPIDICO.....	70
4.4.1 DETERMINACION PERFIL ACIDOS GRASOS.....	70
4.5 PROPIEDADES FISICAS	71
4.5.1 Perfil de textura (TPA).....	71
4.5.2 Perfil de Color.....	71
4.5.3 Perfil sensorial.....	72
4.5.4 DISTRIBUCION DE PARTICULAS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	73
4.5.5 DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES	73
4.5.6 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	74
4.6 DETERMINACION DEL APORTE CALÓRICO EN Kcal.....	74
4.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	74

4.7.1	RECuento de mohos y levaduras.....	74
4.7.2	Aislamiento e identificación de salmonella	74
5.	ESTUDIO DE INTERVENCIÓN	75
5.1	Sujetos y diseño del estudio	75
5.2	Aprobación del comité de ética.....	76
5.3	Mediciones de peso, cintura, cadera y presión arterial.	76
5.4	Cumplimiento de la dieta.....	76
5.5	Análisis de laboratorio	76
5.6	Evaluación psicológica del panelista.....	81
6.	MÉTODOS ESTADÍSTICOS	82
7.	RESULTADOS	83
7.1	Proceso y rendimiento de materias primas.....	83
7.2	Composición nutricional y funcional de la materia prima	84
7.3	Formulación del chocolate	87
7.4	Composición proximal de la tableta enriquecida con triptófano y resveratrol.....	89
7.5	Capacidad antioxidante.....	95
7.6	Perfil de color de la tableta enriquecida.....	100
7.7	Perfil de textura.....	101
7.8	Micro estructura del chocolate	102
7.9	Evaluación sensorial	104
8.	FACTOR ATWATER.....	106
9.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	107
10.	ESTUDIO DE INTERVENCIÓN	108
10.1	Frecuencia de consumo	111
10.2	Análisis de laboratorio	113
10.3	Marcador de estrés oxidativo: 8-ISOPROTANO.....	119
10.4	Catalasa.....	122
10.5	Evaluación psicológica del panelista.....	124
11.	CONCLUSIONES.....	127
12.	RECOMENDACIONES	129
13.	BIBLIOGRAFIA	130

Moller, S.E., 1992. Serotonin, carbohydrates and atypical depression. Pharmacology and Toxicology 71 (suppl 1), 61–71.....	158
ANEXO A. Formato planilla para evaluación sensorial de chocolate con dos formulaciones diferentes.....	176
ANEXO B. Formato planilla para evaluación sensorial para tableta de chocolate final.....	177
ANEXO C. Consentimiento escrito de aceptación de protocolo de estudio	178
ANEXO D. Aprobación del comité de Ética del Hospital Militar “Carlos Arvelo”	180
ANEXO E. Planilla para el cumplimiento de la dieta.....	182
ANEXO F: Inventario para la Depresión de Beck (Beck Depression Inventory: BDI), Fuente: (Beck y col, 1961).....	183
ANEXO G. Resultados obtenidos en cuanto a mediciones de peso, cintura, cadera y presión arterial para cada uno de los pacientes antes y después del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol.	187
ANEXO H. Resultados IMC global obtenidos.	188
ANEXO I. Registro de consumo de alimentos por frecuencia de consumo, antes y después del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol.....	189
ANEXO J. Resultados globales parámetros bioquímicos, Parte A.	193
ANEXO K. Resultados globales parámetros bioquímicos, Parte B.....	194
ANEXO L.Resultados 8 Isoprostano.....	195
ANEXO M.Resultados Catalasa	196
ANEXO N. Resultados Test de Beck.....	197

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Flavonoides alimenticios, subclases y fuentes típicas de alimentación.....	16
Tabla 2. Contenido total de Triptófano en diversos alimentos.....	46
Tabla 3. Valores normales para parámetros Bioquímicos.....	52
Tabla 4. Materiales primarios para la obtención de un chocolate.....	66
Tabla 5. Guía para la interpretación del inventario de la depresión de Beck.....	82
Tabla 6. Resultados del rendimiento mezcla de piel y semillas de uvas.....	84
Tabla 7. Determinación de Aw y caracterización proximal de las materias primas (MP).....	85
Tabla 8. Contenido reportado de Resveratrol y triptófano en materias primas.....	87
Tabla 9. Resultados estadísticos de la evaluación sensorial.....	88
Tabla 10. Composición proximal. Tableta de Chocolate enriquecida con Triptófano (TRP) y Resveratrol (RSV).....	89
Tabla 11. Perfil de ácidos grasos en tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol.....	91
Tabla 12. Contenido de Polifenoles totales extraíbles y concentración efectiva media de EC ₅₀ sobre el radical DPPH.....	96
Tabla 13. Perfil de color: Tableta de Chocolate enriquecida con TRP y RSV...	100
Tabla 14. Evaluación sensorial tableta final.....	104
Tabla 15. Aporte calórico en Kcal para Tableta de chocolate enriquecida con Triptófano y Resveratrol.....	106
Tabla 16. Recuento microbiológico de Mohos y levaduras.....	108
Tabla 17. Nivel de significancia de las mediciones de IMC, peso, cintura, cadera y presión arterial para cada uno de los pacientes.....	109
Tabla 18. Resultados Parámetros Bioquímicos.....	114
Tabla 19. Criterios Glucosa para detección de diabetes.....	117
Tabla 20. Resultados 8 Isoprostano.....	120
Tabla 21. Resultados Catalasa.....	122
Tabla 22. Resultados Test Beck.....	124

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Esqueleto estructural de los flavonoides	13
Figura 2. Estructura básica del Flavanol	21
Figura 3. Estructura química de las prociantocianidinas.....	22
Figura 4. Composición Fitoquímica mayoritaria en semillas de cacao.....	24
Figura 5. Resveratrol (RSV: 3,5,4´trihidroxi-trans-estilben).....	29
Figura 6. Metabolismo endógeno del triptófano	42
Figura 7. Vías serotoninérgicas.....	43
Figura 8. Proceso de obtención de harina de semillas y piel de uvas.....	63
Figura 9. Proceso de obtención de pasta de maní.	65
Figura 10. Proceso de producción de un chocolate.....	68
Figura 11. Proceso de Temperado manual.	69
Figura 12. Esquema representativo de la preparación de las soluciones estándar de 8- isoprostano.....	78
Figura 13. Curva estándar de 8- isoprostano.....	79
Figura 14. Perfil de textura para: Chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol (TAB_2 y TAB_3) y muestra control (TAB_4).....	102
Figura 15. Distribución de partículas en tableta chocolate (Magnificaciones: a) 10 mm; b) 1 mm; c) 500 µm).....	103
Figura 16. Perfil sensorial final de Tableta enriquecida con Triptófano y Resveratrol.....	105
Figura 17. Alimentos consumidos por los pacientes muy frecuente.....	112

JUSTIFICACION

El chocolate desde sus orígenes se consideró un alimento de muy alto valor, de hecho su nombre científico lo corrobora, *Teobroma*: “Alimento de los Dioses”. Lo realmente cierto es que los aztecas no estaban muy lejos de la realidad; durante siglos se mantuvo el hábito de consumo del chocolate en la dieta diaria de la población, principalmente en Latinoamérica, y era considerado un alimento básico para su sustento.

De hecho esa tradición se ha mantenido de forma muy marcada en Colombia donde los niveles de consumo de chocolate de mesa son altos y sigue considerándose como un alimento de la canasta familiar básico para “comenzar bien el día” al proporcionar energía en horas de la mañana principalmente.

En el siglo XIX se desarrollaron distintas tecnologías que permitirían el procesamiento y transformación del cacao de forma eficaz; como lo es el prensado y conchado, llevando al consumidor a ver el chocolate desde otro punto de vista; así pues, la imagen del chocolate cambio pero sobre todo la forma de consumo.

Actualmente, muchas personas consideran el chocolate como una golosina, del mismo modo se asocia con satisfacer un deseo, algunas personas lo consideran un gusto como también un delicado obsequio en ocasiones especiales, y muy rara vez el chocolate es considerado un alimento importante para la nutrición. Entonces, es allí donde los especialistas en el área de los alimentos deben innovar en el desarrollo de productos, a partir de este rubro tan importante para américa latina, de tal manera que se permita incursionar en el mercado nuevos chocolates que además de poseer

todos los beneficios del cacao, aporten otros beneficios comprobados para la salud con la adición de uno más ingredientes funcionales ya que varias evidencias científicas ([Shetty, 2011](#); [Wu y col, 2009](#)), demuestran que los compuestos bioactivos presentes en los alimentos cumplen una importante función.

Las investigaciones han pasado a centrarse más en la identificación de componentes biológicamente activos en los alimentos, que ofrezcan la posibilidad de mejorar las condiciones físicas y mentales, así como reducir el riesgo a contraer enfermedades ([Flórez-Méndez, 2014](#)).

Diversos estudios han demostrado que el cacao y sus derivados son una fuente excepcional de energía y un producto con alto contenido en minerales (magnesio, cobre, hierro y potasio); del mismo modo contiene una gran variedad de componentes activos como los flavonoides como la catequina, epicatequina y proantocianidinas ([Pietta P, 2000](#); [Valenzuela A, 2007](#); [Busse Valverde, 2013](#) y [Galleano y col, 2009](#)).

Los flavonoides por su capacidad antioxidante tienen como función ayudar a prevenir la aparición de algunas enfermedades degenerativas. La manzana, té verde, vino tinto y el chocolate son fuentes considerables de dichos compuestos; se ha demostrado que el alto contenido en favanoles (epicatequina, catequina y proantocianidinas) en el chocolate negro, ejercen poderosos efectos antioxidantes al inhibir la oxidación de las LDL, además de producir una disminución de la agregación plaquetaria y de la presión arterial; por lo tanto su consumo se asocia a una protección de la salud cardiovascular y a otras patologías ([Valenzuela A., 2007](#)).

Hoy en día, se puede demostrar que el chocolate es un producto de alto valor nutricional, de características organolépticas indiscutiblemente aceptadas y preferidas por el consumidor ([Flórez-](#)

Méndez, 2014), de igual forma bueno para la salud, pero siempre con el agravio de ser considerado una golosina y si se considera golosina, ¿Por qué no explorar con golosinas saludables? he aquí el gran reto.

Actualmente, el Centro de Investigación y capacitación en confitería (CICC) en convenio con la Facultad de Medicina de la Universidad San Luis Potosí en México, quisieron afrontar este reto mediante el desarrollo de productos saludables como golosinas; dentro de sus logros más importantes se encuentran un tipo de gomitas que ayudan a prevenir la anemia ya que son enriquecidas con hierro, y del mismo modo un chocolate para la depresión, probado en mujeres postmenopáusicas de edades comprendidas entre 35 y 45 años; dichos productos han adquirido un gran protagonismo en ventas, aportando así sabor y salud al consumidor.

INTRODUCCION

1. INTRODUCCIÓN

Es fundamental dar a conocer, pero sobretodo dar a entender, que comer no solo es masticar un alimento o saciar el apetito. La alimentación contribuye con las funciones básicas del organismo, y que de la misma depende la salud, así como una forma de expresión social con el mundo externo. Se puede afirmar que: nuestro bienestar externo dependerá de lo que está ocurriendo dentro del organismo (Flórez-Méndez, 2014).

La frase famosa “Somos lo que comemos” de la que han discernido muchos autores, señala una realidad en el mundo entero que refleja parte de nuestro desempeño en la vida cotidiana, ya sea por nuestro aspecto físico-morfológico o por nuestro desempeño psico-social. Lo anteriormente expuesto conduce a recapitular como es nuestra alimentación, y que efectos podría acarrear una mala alimentación en lo personal.

Según la Organización Mundial de la Salud, a nivel mundial existen problemas de desórdenes alimentarios los cuales pueden repercutir directamente sobre el comportamiento humano, todos estos incluyendo problemas psicológicos desde muchos años atrás han sido un problema mundial de salud pública, por lo tanto es realmente indispensable proveer al ser humano, niños y ancianos sobre todo, de alimentos sanos, ricos en nutrientes y disponibles para su consumo, permitiendo así mejoras en el comportamiento humano, mejoras en relaciones interpersonales y vida social.

La forma de alimentación para personas con síndrome de Down, autistas o simplemente personas con algún tipo de régimen especial es indispensable para la manutención de sus funciones vitales, dándole así calidad de vida, buena salud y óptimo desenvolvimiento social (Flórez-Méndez, 2014).

Gibson (2006), asegura que comer ciertos grupos de alimentos o comidas, alterará de forma fiable el estado de ánimo y la predisposición emocional, reduciendo típicamente la excitación e irritabilidad y el aumento de la calma. Sin embargo, esto depende de la porción de la comida y la composición de esta, por ejemplo comidas inusuales, en pocas cantidades, o poco saludables, pueden afectar negativamente el estado de ánimo. Alimentos dulces y también los bajos en grasa, pueden mejorar el estado de ánimo y mitigar los efectos del estrés a través de la neurotransmisión dopaminérgica, del mismo modo puede proporcionar el alivio del estrés a través de una mayor función del sistema serotoninérgico.

El chocolate se ha presentado a nivel comercial de muchas maneras, en ellas generalmente no se especifican las propiedades benéficas del chocolate, sin embargo, actualmente se han venido desarrollando productos funcionales a base de cacao para tal fin (Flórez-Méndez, 2014). Los alimentos funcionales están atrayendo interés como posibles reguladores de la susceptibilidad a diversas enfermedades, así pues se lleva a cabo el descubrimiento de otros ingredientes funcionales que ayudarían a promocionar una alimentación saludable.

Los productos de confitería aportan una importante cantidad de calorías a la dieta, por esta razón, es indispensable desarrollar golosinas con un bajo aporte calórico y adicional a esto con un valor agregado nutricionalmente; el desarrollo de productos funcionales es una oportunidad para mejorar la calidad de los alimentos

disponibles para el consumidor con beneficio al bienestar de su salud.

Saber más sobre la composición y el efecto que tienen nuestros alimentos no sólo en la nutrición, sino también en la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades, sin duda redituará en una mejor salud para la sociedad del futuro (Gioscia, 2014).

Los productos considerados confites son un vehículo excelente para la adición de nutrientes específicos, teniendo en consideración que es una forma muy agradable de llevar estos alimentos al consumo no solo infantil sino en general a la población; este proyecto pretende evaluar los efectos del consumo de una tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol sobre el estado anímico y marcadores de estrés oxidativo en una población saludable.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Evaluar los efectos del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol sobre el estado anímico y marcadores bioquímicos en una población sana.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar y evaluar la composición nutricional y funcional de la materia prima (maní y uvas) utilizada para la formulación del producto.
- Desarrollar diversas formulaciones a fin de seleccionar la fórmula óptima del chocolate en cuanto a calidad sensorial.
- Caracterizar de la composición nutricional, proximal y propiedades físicas del chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol.
- Realizar análisis microbiológico y evaluación sensorial al producto desarrollado.
- Evaluar el efecto del chocolate sobre marcadores bioquímicos y de estrés oxidativo sobre una población sana.
- Valorar los panelistas mediante un instrumento psicológico.

3. REVISION BIBLIOGRAFICA

3.1 ESTRÉS OXIDATIVO

Las especies reactivas del oxígeno (ROS) y las especies reactivas del nitrógeno (RNS) son productos normales del metabolismo. En condiciones no patológicas, las ROS y RNS están implicadas en respuestas fisiológicas, como la defensa frente a agentes infecciosos o la mitosis, y pueden actuar como segundos mensajeros (Valko y col, 2007, Masella y col, 2005). Las células tienen una serie de mecanismos de defensa antioxidante (enzimáticos y no enzimáticos) cuya función es neutralizar los radicales libres (Valko y col, 2007, Masella y col, 2005).

Sin embargo, cuando se pierde este delicado equilibrio redox debido a una sobreproducción de ROS/RNS y/o una deficiencia en las defensas antioxidantes de la célula, aparece el estrés oxidativo (Valko y col, 2007). Este exceso de radicales libres puede dañar a los lípidos, las proteínas y el ADN e inhibir su función normal, alterar la estructura y fluidez de las membranas celulares y limitar gravemente la actividad metabólica (Rochette y col, 2014; Valko y col, 2007; Dey y Lakshmanan, 2013). De hecho, todas estas posibles alteraciones, inducidas por el estrés oxidativo, se han relacionado con la aparición, desarrollo y progreso de un gran número de enfermedades crónicas como: cáncer, enfermedades neurodegenerativas, diabetes y el envejecimiento (Valko y col, 2007).

Los radicales libres se definen como moléculas o fragmentos de moléculas que contienen uno o más electrones desapareados, lo que les confiere una gran reactividad (Rochette y col, 2014; Valko y col, 2007). El anión superóxido ($-O_2$), que aparece durante las reacciones metabólicas o por la irradiación, se considera el “radical libre primario” y puede interactuar con otras moléculas para originar “radicales libres secundarios”. El principal punto de generación del anión superóxido en las células es la cadena de transporte de electrones mitocondrial, donde se pierden algunos electrones del oxígeno prematuramente formando dicho radical libre (Valko y col, 2007; Nishikawa, y Araki, 2007).

El anión superóxido puede convertirse en el radical hidroxilo ($-OH$), que tiene una gran reactividad (King y Loeken, 2004), y reacciona con el ADN dañándolo, lo que representa el primer paso de la mutagénesis, la carcinogénesis y el envejecimiento (Valko y col, 2007).

El estrés oxidativo se considera un factor importante en la génesis y progresión de los distintos desórdenes agrupados en el síndrome metabólico (Ridker y col, 2004). Algunos de los procesos implicados en el desarrollo del síndrome metabólico son: estrés oxidativo, captación de glucosa y resistencia a la insulina (Fernández y col, 2007).

3.2 SINDROME METABOLICO

El síndrome metabólico define la agrupación de varios desórdenes metabólicos cuya consecuencia clínica última es la enfermedad cardiovascular y una mayor mortalidad, tanto por enfermedad cardiovascular (infartos de miocardio, microinfartos cerebrales, etc.) como general. Afecta a aproximadamente un 25% de la población en

países occidentales desarrollados como Estados Unidos. Además, las enfermedades cardiovasculares son la mayor causa de mortalidad en el mundo occidental y su incidencia sigue en aumento (Alberti y col, 2006). La definición más aceptada sobre el síndrome metabólico reconoce como componentes centrales o básicos la obesidad, la resistencia a la insulina, la dislipidemia y la hipertensión (Alberti y col, 2006).

En 1988, Reaven denominó síndrome X a la conjunción de estos tres últimos factores; un síndrome muy frecuente en individuos con enfermedad cardiovascular (Reaven, 1988). Los tres factores pueden ser desarrollados debido a la resistencia a insulina, que puede evolucionar a diabetes mellitus de tipo 2 y por esto también se le denominó síndrome de resistencia a la insulina. Cuando la diabetes se hace evidente clínicamente, el riesgo de enfermedad cardiovascular se incrementa de forma drástica. Además de su susceptibilidad a desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2, los individuos con síndrome metabólico son más susceptibles a desarrollar otras distorsiones metabólicas como son el síndrome de ovario poliquístico, hígado graso, depósitos de colesterol en vesícula biliar, asma, perturbaciones del sueño y algunos tipos de cáncer (como cáncer de mama en mujeres).

De acuerdo con Fernández-Larrea y col, 2007; las características generales del síndrome metabólico son: obesidad abdominal, resistencia a insulina y/o intolerancia a glucosa, hipertensión, dislipemia aterogénica (se caracteriza principalmente por niveles plasmáticos de triacilgliceroles en VLDL y de colesterol-LDL elevados y bajos de colesterol-HDL) y estrés oxidativo.

En ausencia de obesidad, la resistencia a la insulina puede ser el agente causante primario de los otros factores metabólicos de riesgo en algunos casos de sobrepeso ligero. En cualquier caso, la ganancia de peso acentúa la resistencia a la insulina y viceversa, por lo que es difícil discernir cuál es la causa primaria.

3.3 DIABETES

La diabetes es una afección crónica que se desencadena cuando el organismo pierde su capacidad de producir suficiente insulina o de utilizarla con eficacia (Magliano y col, 2015). La insulina es una hormona que se produce en el páncreas y permite que la glucosa de los alimentos pase a las células del organismo, en donde se convierte en energía para que funcionen los músculos y los tejidos. Como resultado, una persona con diabetes no absorbe la glucosa adecuadamente, de modo que ésta queda circulando en la sangre (hiperglucemia) y dañando los tejidos con el paso del tiempo. Este deterioro causa complicaciones para la salud, potencialmente letales.

Según la [IDF \(International Diabetes Federation\)](#), la diabetes tipo 1 está causada por una reacción autoinmune, en la que el sistema de defensas del organismo ataca las células productoras de insulina del páncreas. Como resultado, el organismo deja de producir la insulina que necesita. La enfermedad puede afectar a personas de cualquier edad, pero suele aparecer en niños o jóvenes adultos. Las personas con esta forma de diabetes necesitan inyecciones de insulina a diario con el fin de controlar sus niveles de glucosa en sangre. Sin insulina, una persona con diabetes tipo 1 morirá.

La diabetes tipo 2 es el tipo más común de diabetes. Suele manifestarse en adultos, pero cada vez más hay más casos de niños

y adolescentes. En la diabetes tipo 2, el organismo puede producir insulina pero, o bien no es suficiente, o el organismo no responde a sus efectos, provocando una acumulación de glucosa en la sangre.

Las personas con diabetes tipo 2 podrían pasar mucho tiempo sin saber de su enfermedad debido a que los síntomas podrían tardar años en manifestarse o en reconocerse, tiempo durante el cual el organismo se va deteriorando debido al exceso de glucosa en sangre.

En contraste con las personas con diabetes tipo 1, la mayoría de quienes tienen diabetes tipo 2 no suelen necesitar dosis diarias de insulina para sobrevivir. Sin embargo, para controlar la afección se podría recetar insulina unida a una medicación oral, una dieta sana y el aumento de la actividad física.

3.3 FLAVONOIDES

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana ([Martínez-Flórez y col, 2002](#)).

Así mismo, los flavonoides son compuestos polifenólicos que constan de 15 C, su estructura básica es una benzo- γ -pirona (dos

anillos bencénicos unidos por un puente de 3C, es decir, C6-C3-C6) (**Figura 1**) (Benavente-García, 2008; Crozier, 2009). Según la conexión entre los anillos B y C, el estado de oxidación y los grupos funcionales del anillo C se pueden clasificar principalmente en: flavonoles, flavonas, flavan-3-ol, antocianidinas, flavanonas, isoflavanonas (Crozier, 2009).

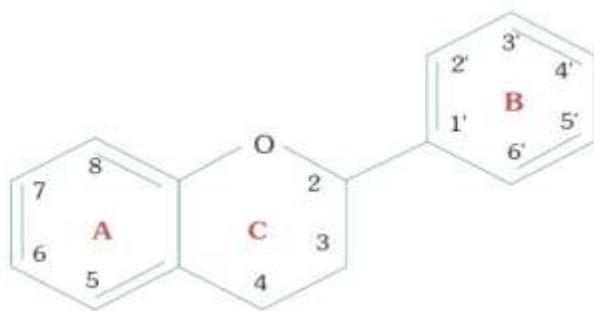


Figura 1. Esqueleto estructural de los flavonoides (**Fuente:** García, 2013).

Desde el punto de vista bioquímico, los flavonoides se caracterizan por poseer una elevada reactividad que se expresa en su afinidad por unirse a proteínas, a otras macromoléculas biológicas (hormonas, ácidos nucleicos) y a iones divalentes de metales, así como por su capacidad para catalizar el transporte de electrones y captar radicales libres. Estas propiedades pueden dar lugar a efectos fisiológicos muy diversos, muchos de los cuales sólo han podido ser puestos de manifiesto en ensayos *in vitro*: inhibición de enzimas, actividad antioxidante, efectos antiinflamatorios, acción antibacteriana y antiviral, secuestro de metales, actividad vascular, entre otras. (Chung, 1998). Todos estos posibles efectos hacen de los flavonoides un grupo de sustancias con un importante potencial

terapéutico, y de hecho entran ya a formar parte de numerosas formulaciones farmacéuticas comercializadas. Por las mismas razones, ha aumentado su interés como componentes de los alimentos y justifica su inclusión dentro del término genérico de fitoquímicos y su papel dentro de alimentos funcionales.

El centro de atención sobre los flavonoides ha estado dirigido últimamente a su actividad antioxidante, dada su reconocida capacidad de atrapar radicales libres, quelar metales y por poseer un bajo potencial redox. Un número importante de especies de oxígeno altamente reactivas como el oxígeno singlete O_2 y O_2^- , OH^- , NO y radicales libres alquil-peroxilo se producen regularmente en nuestro organismo. Estos pueden dañar a lípidos, proteínas y ADN e intervenir en procesos de patogénesis y envejecimiento.

Según [Paredes, 2015](#), se distinguen los siguientes grupos de flavonoides:

Flavanonas: como hesperidina, naringina, naringenina y eriodictiol, que carecen de doble enlace entre los carbonos 2 y 3. Se glicosilan principalmente por la unión de un disacárido en el carbono C7. Las flavanonas aparecen a altas concentraciones, sobre todo, en cítricos y también se encuentran en ciertas plantas aromáticas como la menta.

Flavonas: perejil y apio representan fuentes comestible de flavonas. La piel de las frutas también posee ciertas cantidades de flavonas polimetoxiladas.

Flavonoles: como quercetina y kaempferol, poseen un grupo hidroxilo en la posición 3 del anillo C. Las principales fuentes de flavonoles son las verduras y las frutas. El té y el vino son también alimentos ricos en flavonoles.

Flavanoles o flavan-3-oles: como catequinas y epicatequinas. Poseen el anillo C saturado carente de grupo carbonilo y un grupo hidroxilo en el carbono C3. Pueden aparecer como monómeros (catequinas), como dímeros condensados entre sí y como oligómeros (proantocianidinas), o bien pueden aparecer como polímeros (proantocianidinas o taninos condensados). Sin duda, las principales fuentes de catequinas en la alimentación son el chocolate, el té y el vino.

Antocianinas: como cianidina, delphinidina y malvidina, que se caracterizan por la presencia de un ión oxonio en el anillo C y un grupo hidroxilo en la posición 3 de dicho anillo. Se trata de compuestos muy coloreados e hidrosolubles y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Se pueden encontrar en ciertas variedades de cereales, en el vino tinto y en algunos vegetales, aunque aparecen mayoritariamente en las frutas

Isoflavonas: como genisteína, daidzeína y gliciteína, que poseen el anillo B enlazado al C3 y grupos hidroxilo en los carbonos C7 y C4'. Se pueden unir a receptores de estrógenos, y por ello se clasifican como fitoestrógenos. Se presentan casi exclusivamente en plantas leguminosas, siendo la soja y sus derivados la principal fuente de isoflavonas. En la siguiente tabla se pueden observar los flavonoides comunes en la dieta.

Tabla 1. Flavonoides alimenticios, subclases y fuentes típicas de alimentación (Adaptado de [Shohaib y col, 2011](#)).

Flavonoides comunes en la dieta		
Clases de flavonoides	Flavonoides en la dieta	Fuentes alimenticias
Antocianinas	Cianidina, Delfinidina, Malvidina, Pelargonidina, Peonidina, Petunidina	Bayas rojas, azules y moradas; uvas rojas y moradas; vino tinto
Flavan-3-oles	<u>Monómeros (Catequinas):</u> Catequina, Epicatequina, Galato de epicatequina galato, Galato de epigalocatequina <u>Dímeros y Polímeros:</u> Teaflavinas, Terubiginas, Proantocianidinas	<u>Catequinas:</u> Té (particularmente verde y blanco), chocolate, uvas, bayas, manzanas <u>Teaflavinas, Terubiginas:</u> Té (particularmente negro y oolong) <u>Proantocianidinas:</u> Chocolate, manzanas, bayas, uvas rojas, vino tinto
Flavanonas	Hesperetina, Naringenina, Eriodictiol	Frutas y jugos cítricos, por ejemplo, naranjas, pomelos, limones
Flavonoles	Quercetina, Kaempferol, Miricetina, Isoramnetina	Ampliamente distribuida: cebollas amarillas, cebolletas, col rizada, manzanas, bayas, té
Flavonas	Apigenina, Luteolina	Perejil, tomillo, apio, pimientos picantes
Isoflavonas	Daidzeína, Genisteína, Gliciteína	Soja, alimentos de soja, legumbres

3.4 IMPORTANCIA DEL CACAO EN LA SALUD

Dietas ricas en frutas y verduras promueven la salud, y ayudan a atenuar o retrasar la aparición de diversas enfermedades, incluyendo enfermedades cardiovasculares (ECV), diabetes, ciertos tipos de cáncer, y varios otros trastornos degenerativos relacionados con la edad. ([Galleano y col, 2009](#)).

De igual forma, datos epidemiológicos demuestran que la ingesta regular de alimentos y bebidas de origen vegetal reduce el riesgo de enfermedad coronaria y accidente cerebrovascular. ([Corti y col, 2009](#)); los antioxidantes naturales presentes en estos alimentos, entre los que destacan los polifenoles, pueden ser responsables de esta actividad. La biodisponibilidad de los polifenoles naturales de los alimentos es muy variable, dependiendo del tipo de metabolito, y

la mayoría de ellos son metabolizados por los microorganismos del colon antes de ser absorbidos (Barberán, 2003). Entre los antioxidantes de origen natural que consumimos en nuestra dieta, los flavonoides ocupan un lugar muy importante (Pietta, 2000).

La función de los antioxidantes de origen natural se asocia, desde hace más de treinta años, con su acción protectora en la prevención y el desarrollo de diversas patologías identificadas colectivamente como «patologías por estrés oxidativo» (Valenzuela, 2007). Estas patologías se relacionan con el efecto fatal del oxígeno, el que al transformarse en radicales libres en nuestro propio organismo, inicia procesos de oxidación no controlados que dañan funciones celulares, conduciendo potencialmente al desarrollo de una o de varias enfermedades (Nordberg y col, 2001).

Enfermedades del sistema nervioso como: el Alzheimer y el Parkinson, se han identificado como originadas por el desencadenamiento de un estrés oxidativo no controlado a nivel de células neuronales y gliales (Michaelis y col, 2003). Patologías de amplia prevalencia como lo son la diabetes tipo 2 y las cataratas, también se asocian al estrés oxidativo (Simmons R, 2006); la peroxidación lipídica es un evento importante en el estrés oxidativo (du Plessis y col., 2011); así pues, las enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares tienen importantes componentes derivados del estrés oxidativo. Algunos tipos de cáncer, (hepático, gástrico, de colon, próstata), también presentan componentes de estrés oxidativo en su etiopatogenia (Shahidi F, 2000).

Hoy se sabe que la disfunción endotelial es un marcador precoz de daño vascular (Davignon y col, 2004). El deterioro de la vasodilatación se ha descrito también en otras enfermedades cardiovasculares: en la diabetes tipo I (Beckman y col, 2003) y tipo II (Endemann y col, 2004), en la enfermedad arterial coronaria

(Monnink y col, 2002), en la insuficiencia cardiaca congestiva (Landmesser y col, 2002) y en la insuficiencia renal crónica (Yildiz y col, 2003). Se ha demostrado la existencia de disfunción endotelial en el síndrome metabólico y en la dislipidemia (Engler y col, 2003), y podría asociarse a la obesidad (Raitakari y col, 2004), la vida sedentaria (Green y col, 2003), y el hábito del tabaquismo (Oida y col, 2003). Sin embargo, las ROS no solo participan en la disfunción endotelial hipertensiva sino que colaboran en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión (Santos, 2007).

Las células endotelias vasculares sanas metabolizan el oxígeno y generan especies reactivas de oxígeno (ROS) potencialmente nocivas. En condiciones normales, la tasa de formación de oxidantes esta equilibrada con la tasa de eliminación (Touyz, 2004). Sin embargo, en la disfunción endotelial, sin embargo, existe un desequilibrio entre prooxidantes y agentes antioxidantes, lo que da origen al estrés oxidativo. Así, este será el resultado patogénico de la sobreproducción de oxidantes, con lo que superan la capacidad antioxidante celular. Muchas condiciones patológicas incrementan las ROS en la pared de los vasos, incluyendo hipercolesterolemia, la diabetes y la hipertensión, patologías asociadas a la disfunción endotelial (Santos, 2007).

El estrés oxidativo, la inflamación y la disfunción endotelial definen tres mecanismos biológicos que han demostrado sensibilidad al chocolate (Fernández-Murga y col, 2011), ya que es justamente el cacao uno de los alimentos que se caracteriza por contener una alta proporción de flavanoles. Dentro de los flavanoles más importantes se encuentran la catequina, epicatequina y proantocianidinas, también presentes en el cacao.

Informes recientes indican que los principales flavonoides que se encuentran en el cacao, los flavan-3-oles y sus derivados oligoméricos, proantocianidinas, tienen una variedad de acciones

beneficiosas, incluyendo la protección antioxidante y la modulación de la homeostasis vascular (Steinberg y col, 2003); aunque todavía es debatido, se han propuesto una serie de posibles mecanismos mediante los cuales el cacao podría ejercer sus beneficios sobre la salud cardiovascular, incluyendo la activación de óxido nítrico y efectos antioxidantes y antiinflamatorios (Corti y col, 2009). Los flavan-3-oles se ha informado para exhibir varios efectos beneficiosos de salud al actuar como antioxidante, anticancerígeno, cardio preventiva, antimicrobiano, antiviral, y agentes neuro-protector (Aron y col, 2008).

En representación de los flavonoides que se consumen comúnmente en la dieta estadounidense, los flavan-3-oles y sus productos de condensación poliméricos (las proantocianidinas), se consideran como ingredientes funcionales en diversas bebidas y alimentos procesados; la capacidad de los flavan-3-oles para ayudar a la funcionalidad de los alimentos también se ha establecido en términos de estabilidad microbiana, espumabilidad, estabilidad oxidativa, y estabilidad térmica (Aron y col, 2008).

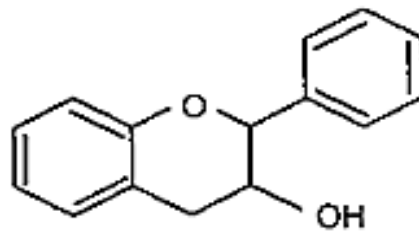
Algunos autores (Aron y col, (2008); Steinberg y col, (2003); Kris-Etherton y col, (2002); (Baba y col, (2007). indican dos nombres diferentes para nombrar los flavanoles polímeros (proantocianidinas o procianidinas); sin embargo, según Busse Valverde (2013), el nombre de procianidinas por el que también se conoce a los polímeros de flavanoles tiene su origen en la propiedad que presentan en medio fuertemente ácido de dar lugar por hidrólisis, a cianidina. No obstante en el caso de que el polímero esté formado por unidades de galocatequina y/o epigalocatequina se obtendría por hidrólisis ácida delfinidina y por tanto se hablaría de prodelfinidinas

(Porter et al., 1985). Por ello, lo más correcto es hablar de proantocianidinas.

En estudios de alimentación, el cacao y chocolate rico en flavanoles aumentaron la capacidad antioxidante del plasma y redujeron la reactividad plaquetaria. (Kris-Etherton y col, 2002).

Según, Sokolov y col, (2013), indicaron que los flavonoides absorbidos del cacao, penetran y se acumulan en las regiones del cerebro implicadas en el aprendizaje y la memoria, especialmente en el hipocampo. Se cree que el mecanismo neurobiológico de los flavanoles ocurre de dos maneras principales: primero, a través de interacciones directas en las células que resulta en la síntesis de proteínas neuroprotectoras y neuromoduladoras que promueven la neurogénesis, la función neuronal y conectividad del cerebro; segundo, a través de la mejora del flujo de la sangre y la angiogénesis en el cerebro y los sistemas sensoriales.

Los flavanoles (**figura 2**) y proantocianidinas de cacao aislados exhiben fuertes propiedades antioxidantes *in-vitro*; con base en datos limitados, se necesita aproximadamente 150 mg de flavonoides para desencadenar un efecto antioxidante rápido en el plasma. Por otro lado, algunas pruebas de respuestas a dosis, demuestran un efecto antioxidante con administración de 500 mg de flavonoides aproximadamente. Asimismo, la estimación de consumo de chocolate rico en flavonoides para ejercer efecto agudo y crónico en el plasma es aproximadamente de 38 y 125 g, respectivamente (Kris-Etherton y col, 2002).



Flavanol

Figura 2. Estructura básica del Flavanol (Martínez-Flórez y col, 2002).

Los flavanoles representan una compleja familia compuesta por las diferentes formas isoméricas de la catequina y sus polímeros (Cheynier y col., 2000) (**Figura 3**). La estructura básica de la catequina presenta dos carbonos asimétricos por lo que existen 4 isómeros: (+)/(-) catequina y epicatequina.

Los flavanoles poliméricos reciben el nombre de taninos condensados o proantocianidinas y corresponden a cadenas formados por diferente número de unidades de los diversos flavanoles unidas mediante enlaces C4-C8 o C4-C6; su presencia ha sido detectada en la uva recientemente (Passos y col., 2007).

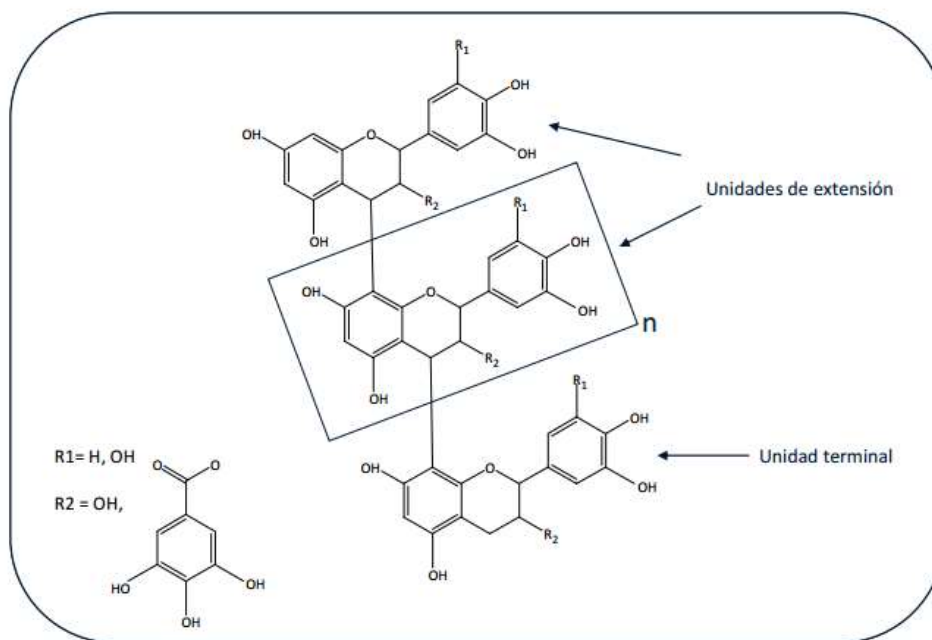


Figura 3. Estructura química de las proantocianidinas (Busse Valverde, 2013).

Basados en los beneficios para la salud, atribuidos a los componentes de cacao, el concepto de que el consumo moderado de chocolate podría ser parte de una dieta sana ha ganado aceptación en los últimos años; específicamente, el cacao como una planta y el chocolate como alimento contienen una serie de productos químicos que pueden interactuar con los componentes de las células y los tejidos, que proporcionan protección contra el desarrollo y mejora de las condiciones patológicas. Los efectos más relevantes del cacao y el chocolate se han relacionado con las enfermedades cardiovasculares (Galleano y col, 2009).

3.2 EFECTOS DEL CHOCOLATE EN LA SALUD CARDIOVASCULAR

El cacao, que se obtiene de la almendra del árbol del cacao, fue utilizado durante cientos de años por los indígenas sudamericanos en la preparación de una bebida amarga, que los europeos modificaron en su preparación y composición, hasta originar lo que hoy se conoce como el chocolate, en sus variedades negro (u oscuro), con leche, y blanco. De ellos el más interesante es el chocolate negro, debido a su alto contenido de los flavanoles epicatequina, catequina y proantocianidinas (Valenzuela, 2007).

El cacao contiene numerosos fitoquímicos entre los que se puede destacar a los polifenoles y metilxantinas por ser los más abundantes (Kim y col, 2014. **Figura 4**). Los polifenoles suponen hasta 12-18% del peso seco de la semilla, y son mayoritariamente flavanoles (Gu y Lambert, 2013). Así, los flavanoles más abundantes son: la epicatequina (EC) (328,1 mg/100 g de semilla), las proantocianidinas (108,7 mg/100 g de semilla cacao) y la catequina (72,4 mg/100 g de semilla) (Lamuola-Raventós y col, 2005), además de contener trazas de otros flavanoles como (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina; por tanto, la EC es el flavanol monomérico más abundante en el cacao (35% del contenido total de polifenoles) (Andres-Lacueva y col, 2008).

Flavanoles	(-)-Epicatequina (-)-Catequina (+)-Catequina (-)-Epicatequina-3- <i>O</i> -galato (+)-Galocatequina Procianidina B1 Procianidina B2 Procianidina B2- <i>O</i> -galato Procianidina B2-3,3-di- <i>O</i> -galato Procianidina B3 Procianidina B4 Procianidina B4-3- <i>O</i> -galato Procianidina C1 Procianidina D
Antocianinas	3- α -L-arabinosidil cianidina 3- β -D-galactosidil cianidina
Flavonoles	Quercetina Quercetina-3- <i>O</i> -arabinósido Quercetina-3- <i>O</i> -galactósido Isoquercetina
Flavonas	Luteolina Luteolina-7- <i>O</i> -hiperósido Orientina Isoorientina Vitexina Isovitexina
Flavanonas	Naringenina Naringenina-7-glucósido
Acidos fenólicos	Acido clorogénico Ácido vanílico Ácido cumárico Ácido cafeico Ácido felúrico Ácido fenilacético Ácido siringico Clovamida (ácido fenólico) Deoxiclovamida (ácido fenólico) Dideoxiclovamida (ácido fenólico)
Metilxantinas	Teobromina Cafeína

Figura 4. Composición Fitoquímica mayoritaria en semillas de cacao (Adaptada de [Kim y col, 2014](#)).

Los flavanoles del cacao parecen estar implicados en la reducción del riesgo cardiovascular a través de la inhibición de la agregación plaquetaria y de la mejora en el estado antioxidante, dado que

disminuyen biomarcadores de estrés oxidativo como la oxidación de las LDL (Kim y col, 2014).

Se ha demostrado que estos flavanoles ejercen poderosos efectos antioxidantes al inhibir la oxidación de las LDL, además de producir una disminución de la agregación plaquetaria y de la presión arterial. El chocolate negro contiene una alta cantidad de flavanoles, por lo cual su consumo se asocia a una protección de la salud cardiovascular y a otras patologías (Valenzuela, 2007).

De acuerdo con Fernández-Murga y col, (2011), el consumo de chocolate ha estado involucrado en la modulación de protección de la presión arterial, el perfil lipídico, la activación de las plaquetas, y la sensibilidad a la insulina.

Individuos que han recibido de 35 a 105 g de chocolate negro (una porción típica de chocolate es de 40 a 60 g) muestran un significativo aumento de la epicatequina a nivel plasmático, lo que se correlaciona con un significativo aumento de la capacidad antioxidante del plasma, un parámetro analítico muy utilizado para evaluar la efectividad fisiológica de antioxidantes dietarios (Rein y col, 2000; Wang y col, 2000). Las LDL obtenidas de individuos que han consumido chocolate oscuro muestran una mayor resistencia a la oxidación, lo cual prueba el efecto a nivel fisiológico de los flavanoles del cacao (Rein y col, 2000). El consumo de chocolate negro afecta muy positivamente el metabolismo de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), identificadas habitualmente como el “colesterol bueno”, incrementado su concentración (Mursu y col, 2004). Las HDL están involucradas en el transporte reverso del colesterol y un incremento en sus niveles es actualmente

considerado como un efecto protector en el riesgo cardiovascular (Negre-Salvayre y col, 2006).

De acuerdo a [Baba y col, \(2007a\)](#), el polvo de cacao es rico en polifenoles, tales como: catequinas y procianidinas, y se ha demostrado en una variedad de modelos sujetos a inhibir la formación de LDL oxidada y la aterogénesis. Estos autores evaluaron en personas normales y ligeramente hipercolesterolémicas el colesterol LDL en plasma y las concentraciones de LDL oxidadas después de la ingesta de diferentes polvos de cacao, dando a ingerir a 160 sujetos, un polvo de cacao con bajos compuestos polifenolicos (grupo placebo) o 3 muestras de polvo de cacao con alto contenido en polifenoles (13, 19,5, y 26 g / d), durante 4 semanas consumiéndolos como una bebida caliente 2 veces al día. En todos los casos, las concentraciones de LDL oxidada en plasma disminuyeron al ingerir polvo de cacao con alto contenido de polifenoles, y la concentración en plasma de colesterol HDL aumentó. Estos resultados sugieren que las sustancias polifenólicas derivadas de cacao en polvo pueden contribuir a una reducción en el colesterol LDL, una elevación en el colesterol HDL, y la supresión de LDL oxidada.

[Baba y col, \(2007b\)](#), examinaron si la ingesta a largo plazo de cacao en polvo altera los perfiles de lípidos en plasma en sujetos humanos normales y ligeramente hipercolesterolémicos, al medir los niveles de retraso en la oxidación del LDL en plasma, tras haber ingerido 25 pacientes por 12 semanas una cantidad de: (a) 0 y 12 g de polvo de cacao y azúcar respectivamente (grupo control), y (b) 26 y 12 g de polvo de cacao y azúcar. Los resultados corroboraron que en el grupo (b) presento un mayor retraso en la oxidación del LDL en plasma respecto al grupo (a).

Los oligómeros de las proantocianidinas del cacao han demostrado, en diferentes modelos experimentales, su capacidad para inhibir la

oxidación de las LDL (Wan y col, 2001) y para incrementar la producción del NO (Oxido Nitrico) en el tejido endotelial, efecto que se traduce en una acción vasodilatadora (Hermann y col, 2006), y de relajación vascular (Rein, 2000), disminuyendo, además, la insulino resistencia (Grassi y col, 2005), uno de los marcadores importantes del síndrome metabólico, identificado actualmente como la «patología del siglo XXI». También, se ha demostrado que las proantocianidinas del cacao inhiben, tanto la activación como la agregación de las plaquetas en los vasos sanguíneos, efecto fisiológico que se complementa con la acción inhibidora de la oxidación de las LDL (Wan y col, 2001; Rein, 2000).

Sin embargo, el chocolate sigue siendo un gran aliado para la salud ya que otro de los componentes mayoritarios del chocolate podría ayudar del mismo modo a la salud cardiovascular de quienes los consumen. La manteca de cacao, está compuesta por lípidos constituidos de triglicéridos (98 %), ácidos grasos libres (1 %), diglicéridos (0,3 - 0,5 %) y monoglicéridos (0,1 %). También contienen alrededor de 0,2 % de esteroides, tocoferoles (150 a 350 ppm), principalmente c- tocoferol, y de 0,05 a 0,13 % de fosfolípidos. Los ácidos grasos dominantes en la composición de la manteca de cacao son el palmítico (C16:0, P), 24,4 - 26,7 %; el esteárico (C18:0; St), 34,4 - 35,4 %; el oleico (18:1; O), 37,7 - 38,1%, y el linoleico (C18:2, L) en baja proporción (1 - 2 %) (Álvarez, 2014). Numerosos trabajos de investigación focalizan el efecto de los flavanoles, tanto monoméricos como oligoméricos, en la protección de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, LDL (Mathur y col, 2002).

La oxidación de esta lipoproteína, la principal transportadora de colesterol en el sistema vascular (también identificada como LDL-colesterol), es uno de los componentes del proceso que produce daño e inflamación crónica en los vasos sanguíneos, conduciendo a la formación de placas (ateromas) que obstruyen los grandes vasos,

y que en su conjunto constituyen la aterosclerosis, o patológicamente mejor conocida como arterioesclerosis; todos estos procesos van acompañados de episodios de vasoconstricción, por inhibición en la formación del óxido nítrico (NO), un radical libre que es el principal agente vasodilatador, lo que agrava aún más el efecto de la lesión (Valenzuela, 2007).

3.3 IMPORTANCIA DEL RESVERATROL EN LA SALUD

El resveratrol (RSV: 3,5,4'-trihidroxi-trans-estilben. **Figura 5**) es un compuesto polifenólico que representan a la clase de estilbeno (Wenzel y Somoza, 2005), es un potente antioxidante, producido por más de 70 especies de plantas en respuesta a situaciones estresantes como radiación ultravioleta, infecciones fúngicas, entre otras (Burns y col, 2002). La mayoría de los estilbenos en las plantas actúan como fitoalexinas antifúngicas (producida naturalmente por varias plantas) compuestos que por lo general se sintetizan sólo en respuesta a la infección o lesión.

El resveratrol dietético se ha implicado en los beneficios para la salud asociados con las uvas y el vino tinto, más específicamente con beneficios potenciales para el síndrome metabólico, el uso de energía y el aumento de la resistencia (Hurts y col, 2008), así mismo, ayuda una amplia gama de actividades biológicas, que comprenden propiedades neuroprotectoras, anti-cancerígenas, anti-isquémicas, antivirales, anti-envejecimiento y anti-inflamatorias (Wu y col, 2009; Shetty, 2011), así pues, protege el cerebro contra la oxidación por estrés; siendo el estrés oxidativo conocido por jugar un papel importante en la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas.

El compuesto estilbeno del resveratrol es una medicina natural derivada de frutas y hierbas. (Ou HO y col., 2006). La propiedad antiinflamatoria del compuesto estilbeno del resveratrol depende en gran parte de su estructura y posición de los grupos hidroxilo (OH). Foti-Cuzzola y col, (2011). La capacidad del resveratrol para entrar en el cerebro después de una administración periférica y sin efectos adversos en el cerebro o el cuerpo son otras características que son atractivos para el uso de este compuesto como tratamiento para la lesión cerebral o enfermedades neurodegenerativas (Shetty, 2011), como se mencionó previamente.

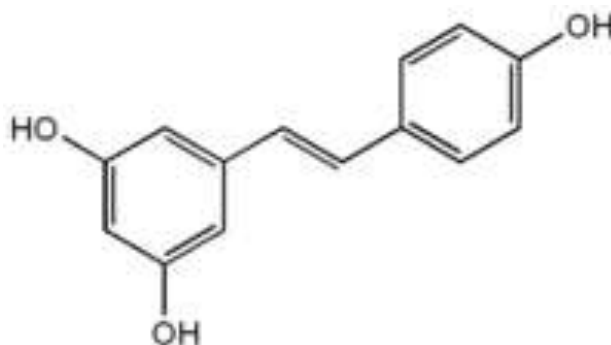


Figura 5. Resveratrol (RSV: 3,5,4' trihidroxi-trans-estilben).

Algunos de estos efectos, especialmente el antioxidante, necesitan unas concentraciones elevadas en tejidos, aunque son una excepción algunos de sus efectos como quimio-preventivo y quimio-terapéutico respecto al cáncer. En dicho caso, la resveratrol afecta la actividad de los factores involucrados en la transcripción, proliferación y respuesta en relación con el estrés y lideran la modulación de los factores apoptóticos y de supervivencia en la carcinogénesis. En las enfermedades ateroscleróticas y neurodegenerativas, los efectos del resveratrol no son debidos únicamente a sus propiedades antioxidantes y antiradicalarias, sino

que también intervienen en la modulación de las rutas de la transducción de los señales celulares y la activación de diversas enzimas a concentraciones micromolares (Urpi-Sarda y col., 2007).

El resveratrol ofrece una opción prometedora en el tratamiento y prevención de enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y otros desórdenes neurológicos (Bjorkhem y col., 2006; Markus y col, 2008).

3.3.1 RESVERATROL Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria autoinmune desmielinizante del sistema nervioso central. La enfermedad también se considera como enfermedad de la sustancia blanca ya que los axones mielinizados y protuberancias neuronales permanecen en la materia blanca del cerebro y la médula espinal.

La eficacia terapéutica del compuesto de estilbeno del resveratrol para el tratamiento de EM ha sido demostrado por (Fonseca- Kelly y col., 2012). Se ha encontrado que el resveratrol podría ser un compuesto inmunoterapéutico prometedor que induce respuestas inmunes anti-inflamatorias mediadas por células; el RSV ejerce esta actividad mientras que disminuye simultáneamente la gravedad de la desmielinización como resultado de acontecimientos inflamatorios en el SNC. Se ha visto que el resveratrol indirectamente inhibe el factor nuclear **κB** (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas), involucrado en la toxicidad por P-amiloide que genera enfermedad de Alzheimer (Markus y col, 2008).

3.3.2 RESVERATROL Y ALZAIMER

En la enfermedad de Alzheimer el hipocampo es una de las primeras regiones del cerebro en sufrir daño. Los problemas de memoria y

desorientación entre los primeros síntomas. El daño al hipocampo también puede proceder de situaciones de hipoxia, encefalitis o epilepsia del lóbulo temporal. Las personas que han sufrido un daño extenso en el hipocampo pueden experimentar amnesia, es decir, la incapacidad para adquirir o retener nuevos recuerdos (Duvernoy, 2005).

3.3.3. RESVERATROL Y EPILEPSIA

La epilepsia es un trastorno provocado por un desequilibrio en la actividad eléctrica de las neuronas en alguna zona del cerebro. Se caracteriza por uno o varios trastornos neurológicos que dejan una predisposición en el cerebro a padecer convulsiones recurrentes, que suelen dar lugar a consecuencias neurobiológicas, cognitivas y psicológicas (Fisher y col, 2005). Se desarrolla debido a la hiperactivación de las neuronas. Esto es consecuencia de las alteraciones condicionadas a la transmisión sináptica en el cerebro. Si bien con la epilepsia existen vínculos genéticos, la formación de los tumores cerebrales, lesiones cerebrales y enfermedades neurodegenerativas con frecuencia conducen a la epilepsia y a convulsiones en la edad adulta. En la epilepsia, la activación de células gliales en el lóbulo temporal, es una característica que modula la función neuronal en convulsión (Foresti y col, 2011), por lo tanto, la inhibición de gliosis y la regulación de la diferenciación selectiva de las neuronas en el cerebro que son importantes para el desarrollo de las intervenciones terapéuticas en epilepsia.

Wu y col, (2009), evaluaron el efecto antiepiléptico del resveratrol en el lóbulo temporal inducido por el Kainato en ratas, realizando un registro de electroencefalografía intracraneal, y demostrando que el RSV disminuye la frecuencia de las convulsiones espontáneas e

inhibe las descargas epileptiformes. Este estudio también reveló que en ratas administradas con RSV el nivel de expresión de los receptores de Kainato (KARS) se redujo en el hipocampo en comparación con la de los epilépticos que aumenta. Estos resultados sugieren que el RSV es un potente agente antiepiléptico. Según [Contractor y col \(2000\)](#), los receptores de kainato son abundantes en el hipocampo y tienen un rol minoritario en la señalización de las sinapsis. No obstante, fundamental en la plasticidad sináptica, pues afectan a la respuesta *a posteriori* de la célula estimulada.

[Shetty, \(2011\)](#), discute el uso del RSV para tratar las convulsiones agudas y la prevención del desarrollo de un estado epiléptico caracterizado por convulsiones recurrentes espontáneas y disfunción cognitiva. Por su parte [\(Gupta y col, 2002\)](#), estudiaron el efecto protector del resveratrol frente a ataques inducidos por pentilentetrazol y su modulación por un sistema adenosinérgico, demostrando que el uso de un anticonvulsivo más resveratrol reduce significativamente la incidencia de convulsiones tónico-clónicas generalizadas.

3.3.4 RESVERATROL Y ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Los taninos de los hollejos de uvas, están constituidos por proantocianidinas y prodelfinidinas [\(Souquet et al., 1996\)](#), mientras que los de las semillas únicamente por proantocianidinas parcialmente galoiladas [\(Prieur et al., 1994\)](#), lo que conlleva a la prevención de enfermedades cardiovasculares. En conjunto, los efectos antioxidantes de alimentos ricos en flavonoides pueden reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular. [\(Kris-Etherton y col, 2002\)](#).

En la población del sur de Francia, los habitantes, a pesar de tener una dieta rica en grasas saturadas y unos factores de riesgo similares a los de otros países industrializados (escaso ejercicio, elevado consumo de tabaco, etc.) gozan de una buena salud cardiovascular, la cual ha sido atribuida a un mayor consumo diario y moderado de vino, especialmente de vino tinto por dicha población (Gómez y col., 2004). A esta “*paradoja francesa*” se debe atribuir, en parte a la presencia de resveratrol en vino lo que conduce a baja incidencia de cardiopatía isquémica y de otras enfermedades cardiovasculares.

Además la protección cardiovascular que ofrece el resveratrol contribuye a la neuroprotección. En numerosos estudios se ha visto que el tratamiento con resveratrol disminuye marcadamente el daño cerebral causado por isquemia, hemorragia, convulsiones y epilepsia (Markus y col, 2008).

3.3.5 RESVERATROL Y CANCER

La búsqueda de agentes quimiopreventivos del cáncer novedosos y eficaces ha conducido a la identificación de varios compuestos que ocurren naturalmente uno de los cuales es el resveratrol que tiene efectos anti-inflamatorios y antioxidantes potentes y para inhibir la agregación plaquetaria y el crecimiento de una variedad de células cancerosas.

Según Athar y col (2007), su potencial quimiopreventivo y actividades quimioterapéuticos tanto *in vitro* como *in vivo*, se han demostrado en las tres etapas de la carcinogénesis de la piel inducido por UVB en ratones (iniciación, promoción y progresión), así como en varios otros tipo de roedores, proporcionando foto-protección, previniendo el daño celular.

El resveratrol se ha mostrado eficaz en modelos murinos con diversos cánceres humanos, de forma que cuando se añade a células en cultivo es capaz de inhibir una gran variedad de líneas celulares cancerígenas. En los cultivos celulares el resveratrol induce la detención del ciclo celular permitiendo:

- Ganar tiempo para reparar el ADN dañado
- Inducir la activación de las vías que conducen a la apoptosis cuando el daño es irreversible en determinadas células cancerígenas
- Inhibir la proliferación de células neoplásicas.

Así, el resveratrol entraría a formar parte del grupo de componentes de la dieta que pueden regular el ciclo celular y contribuir a la prevención del cáncer.

3.3.6 ALIMENTOS RICOS EN RESVERATROL

El resveratrol es abundante en la piel y semillas de uvas como viniferina (Ou HO y col., 2006; Shetty, 2011), tiene propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias (Ou HO y col., 2006; Dani y col., 2009) que se han estudiado ampliamente en las enfermedades cardiovasculares y la aterosclerosis (Dai y col., 2000).

Según diferentes autores (Burns y col, 2002; Tang y col, 2014) se halla en las partes leñosas del pino, la vid, los frutos secos (nueces, cacahuetes), la piel de las uvas y en el vino, especialmente en el vino tinto, en las moras y otros frutos silvestres. Según Burns y col (2002), el resveratrol se encuentra en la naturaleza en forma de isómero *cis*- y *trans*, siendo la forma más habitual en la piel de la uva el *trans*-resveratrol. Los vinos tintos son principalmente una fuente de *cis* y *trans*-resveratrol. Mientras que los cacahuetes y las uvas

contienen bajos niveles de la estilbenos, en el té Itadori y vino tinto las concentraciones de resveratrol son relativamente altas. Para las personas que no consumen alcohol, el té Itadori puede ser un sustituto adecuado del el vino tinto.

El trans-resveratrol ha sido descrito como un compuesto capaz de ayudar a prevenir o reducir un amplio abanico de disfunciones como cáncer (Jang y col., 1997, Asensi y col., 2002), obesidad (Macarulla, et al., 2009), enfermedades hepáticas (Gómez-Zorita y col., 2012) y ECV (Gómez-Zorita y col., 2012) entre muchas otras. Además, se le ha atribuido la capacidad de aumentar la resistencia al estrés y prolongar la esperanza de vida de levaduras (Howitz y col., 2003) hasta vertebrados (Baur y col., 2006, Valenzano, y col., 2006).

La cantidad de RSV depende de diversos factores tales como la variedad de vid cultivada, las condiciones agronómicas, la región geográfica y de los procesos enológicos utilizados (Langcake&Pryce, 1976, Siemann&Creasy, 1992). Siendo una fitoalexina, su síntesis se ve aumentada en respuesta al estrés ambiental, sobre todo aquél producido por infecciones bacterianas o fúngicas, así que, un vino producido a partir de uvas que hayan sufrido un ataque de este tipo tendrá niveles más altos de RSV.

Debido a que Venezuela posee un clima tropical, la producción vinícola es muy escasa. Sin embargo, recientemente se ha iniciado el cultivo de uvas para la producción vinícola; principalmente en el estado Lara se encuentra en cierto grado las condiciones climáticas y del suelo pertinentes para la cosecha de uvas; uno de los viñedos más importantes se encuentra en la localidad de Altigracia (prácticamente la capital vinícola de Venezuela), comúnmente conocidas como “Las Viñas de Altigracia” pertenecientes a la marca comercial vinícola “Pomar”.

Las uvas que se producen bajo estas condiciones climáticas, y específicamente en este viñedo son *Chenin Blanc*, *Syrah*, *Tempranillo*, uvas destinadas a la producción de vino jóvenes y madurados. Por otro lado el Instituto de la Uva de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, ha estado trabajando en especímenes distintos y en la producción de vino utilizando cepas criollas y tropicalizadas.

3.3.7 METABOLISMO NEUROPROTECTOR DEL RESVERATROL Y SU EFECTO CONTRA EL ENVEJECIMIENTO.

El resveratrol es absorbido en el intestino delgado y metabolizado; alrededor del 75% de este polifenol se excretan a través de las heces y la orina. La biodisponibilidad oral de resveratrol es muy baja debido al metabolismo rápido y extenso y la consiguiente formación de diversos metabolitos como glucurónidos y sulfatos de resveratrol (Wenzel y Somoza, 2005). Por tanto, sus beneficios en la salud derivados de la ingesta son debido a los metabolitos biológicamente activos que se forman (Urpi-Sarda J., y col, 2007).

Actualmente, se está hipotetizando que el resveratrol actúa utilizando las mismas rutas metabólicas que la restricción calórica (Urpi-Sarda y col., 2007).

La restricción calórica y el resveratrol tienen en común que ambos aumentan la sensibilidad a la insulina por reducción de la glicemia, insulinemia y aumento del HDL ya que ambos activan el gen SirT-1, el gen más asociado actualmente con aumento de la longevidad. Este gen codifica para las sirtuinas (Lekli y col, 2010). Se han descubierto 7 sirtuinas en mamíferos, de las cuales SIRT- 1 es la encargada de prolongar la vida tanto por restricción calórica como por resveratrol. La activación de SIRT-1 lleva a la activación de

varias vías implicadas en el metabolismo de carbohidratos, metabolismo de grasas y supervivencia celular, que tiene como consecuencias finales disminución de enfermedades metabólicas, cardiovasculares, neurológicas y mitocondriales ([Markus y col, 2008](#); [Borge y col, 2013](#)).

De acuerdo con un estudio publicado por [Morselli y col \(2010\)](#), el resveratrol activa los genes de la longevidad en cierta variedad de levaduras aumentando la esperanza de vida, funciona de la misma forma que la restricción calórica (la única forma científicamente probada que aumenta la longevidad) por activación de los genes SIRT que también se encuentran en humanos. SIRT1 regula diferentes procesos celulares como la proliferación, diferenciación y apoptosis a través de la desacetilación de importantes proteínas reguladoras como del factor nuclear kB (NF-kB).

El RSV ejerce una acción neuroprotectora en el sistema nervioso central, que presumiblemente implica la regulación de la transcripción de la familia de las proteínas NF-kB. El NF-kB es un complejo proteico que controla la transcripción del ADN. La transcripción del ADN es el primer proceso de la expresión génica, mediante el cual se transfiere la información contenida en la secuencia del ADN hacia la secuencia de proteína, utilizando diversos ARN como intermediarios. Durante la transcripción genética, las secuencias de ADN son copiadas a ARN mediante una enzima llamada ARN polimerasa que sintetiza un ARN mensajero que mantiene la información de la secuencia del ADN ([Nelson y col, 2008](#)).

Las NF-kB se encuentran en la mayoría de tipos de células animales y está implicado en la respuesta celular frente a estímulos como el estrés, las citoquinas, radiación ultravioleta, LDL oxidadas y antígenos bacterianos o virales ([Gilmore TD. 2006](#)). El NF-kB tienen un rol clave en la regulación de la respuesta inmune debida a

la infección (las cadenas ligeras kappa son componentes cruciales de las inmunoglobulinas).

La regulación defectuosa del NF-kB está relacionada con el cáncer, enfermedades inflamatorias y autoinmunes, shock séptico, infecciones virales o un desarrollo inmune inadecuado. También está implicado en procesos de plasticidad sináptica y de memoria (Albensi BC, Mattson MP, 2000).

Sin embargo, es primordial mencionar que los efectos biológicos expuestos en los trabajos experimentales fueron observados al utilizar cantidades mucho más elevadas que las obtenidas en el plasma humano tras la ingesta oral de resveratrol; por tanto se requerirían cantidades enormes para activar los SIRT de manera eficiente, por lo que falta determinar con exactitud la dosis de resveratrol que produciría en los seres humanos los efectos preventivos frente a determinadas enfermedades; así mismo muchos autores (Markus y col, 2008; Athar y col, 2007; Shetty, 2011; Wu y col, 2009), corroboran que están en marcha diferentes ensayos clínicos para evaluar la respuesta exacta en seres humanos del resveratrol, que hasta el momento en los estudios *in vivo* e *in vitro* ha mostrado un efecto antienvjecimiento, quimiopreventivo, cardio y neuroprotector (Urpi-Sarda y col., 2007).

3.4 IMPORTANCIA DEL TRIPTOFANO EN LA SALUD

El triptófano es un aminoácido esencial que se debe administrar por medio de alimentos que lo contengan, ya que el organismo no lo sintetiza. Este aminoácido es el precursor de la serotonina que comúnmente se encuentra relacionada con proporcionar felicidad y bienestar dentro de nuestro sistema nervioso; números estudios (Dinges y col, 1994; Paredes y col, 2007; Cubero, 2004), confirman

que la serotonina está involucrada con la regulación del sueño y del placer, incluso se ha corroborado que la presencia de serotonina en el cerebro ejerce diversas acciones terapéuticas dentro del organismo.

Mucho se ha relacionado el consumo de este aminoácido con la salud y salud mental:

3.4.1 TRIPTÓFANO Y ESTADOS DEPRESIVOS

Según [Riemann y col. \(2001\)](#), la concentración del aminoácido triptófano disminuye en pacientes deprimidos con respecto a personas normales, produciéndose una disminución de los niveles de serotonina, neurotransmisor sintetizado a partir de este aminoácido y que también está directamente implicado en la depresión. Cuando se produce un trastorno depresivo, este va acompañado de una respuesta del sistema inmune inflamatorio (citocinas, interleucinas, entre otras.) observándose una relación inversamente proporcional entre estos indicadores del sistema inmune y la concentración de triptófano en plasma.

Se ha visto que pacientes con depresión tienen menores niveles de este aminoácido en plasma que personas normales. La administración intravenosa de triptófano se ha usado durante décadas para analizar la función de la serotonina en pacientes deprimidos, antes y durante el tratamiento antidepresivo ([Cubero y col., 2006](#)). Cuando a pacientes con depresión se les disminuía la cantidad de triptófano, se producía una recaída de sus síntomas, produciéndose déficit en la actividad serotoninérgica y una disminución en su recaptación, pero no se producían efectos inmediatos sobre el humor. Sin embargo, cuando se les administraba de forma intravenosa este aminoácido, se producía

una disminución de los síntomas depresivos y una mayor respuesta del cortisol, disminuyendo con ello el nerviosismo y la irritabilidad (Delgado y col., 1990). Los niveles bajos de triptófano circulante también se han relacionado con el suicidio, ya que varios estudios han demostrado niveles bajos de serotonina en el líquido cefalorraquídeo en pacientes suicidas (Hung y col., 2011; Shinozaki y col., 2013).

3.4.2 TRIPTÓFANO E INSOMNIO

Desde hace muchos años se descubrió que el tiempo para conciliar el sueño se puede reducir en forma importante administrando en forma oral triptófano. La reducción en la latencia para dormir es un hecho importante a dosis de un gramo de triptófano. Según estudios realizados por Dinges y col, (1994), incluso pacientes con insomnio se quedan dormidos más fácilmente, después de una sola dosis de triptófano.

Paredes y col (2007), determinaron que el triptófano aumenta el descanso nocturno y ejerce un efecto directo en los niveles de melatonina y serotonina en suero, corroborado que al suministrar 300 mg / kg triptófano a las 19:00 horas (mejores resultados) los niveles y amplitudes nocturnos y diurnos de serotonina y melatonina fueron significativamente más altos que los niveles correspondientes antes y después del tratamiento. Se ha observado que las personas que presentan alteraciones del sueño, al igual que ocurría en pacientes depresivos, existe una disminución de los niveles de triptófano en plasma respecto a personas normales (Cubero, 2004).

3.4.3 METABOLISMO DEL TRIPTOFANO

A nivel plasmático, el triptófano es el único aminoácido que circula ligado a la albúmina (90% del total de triptófano plasmático), por lo que entra en competencia con los ácidos grasos no esterificados. Del triptófano plasmático, solo el, no-ligado a la albúmina es capaz de cruzar la barrera hemato-encefálica. El triptófano pasa de la sangre al líquido cefalorraquídeo, superando la barrera hemato-encefálica mediante un transportador tipo L (LAT1; transporte activo). Este transportador también lo utilizan la tirosina, la fenilalanina, la leucina, la isoleucina y la valina (aminoácidos neutros de gran tamaño; LNAA) que compiten con el triptófano (Ruddick y col., 2006).

El 5-hidroxitriptófano (5-HTP) tiene ventajas sobre el triptófano, ya que su absorción intestinal no requiere la presencia de un transportador y que no se ve afectada por la presencia de otros aminoácidos y carbohidratos en la dieta (Comai y col, 2007a, b; Bertazzo y col, 2011). La absorción del 5HTP también dependerá de la digestibilidad de la proteína, la presencia de factores anti-nutricionales, relación de triptófano / aminoácidos neutros y la presencia de carbohidratos añadidos a la bebida (Comai y col., 2007a, b).

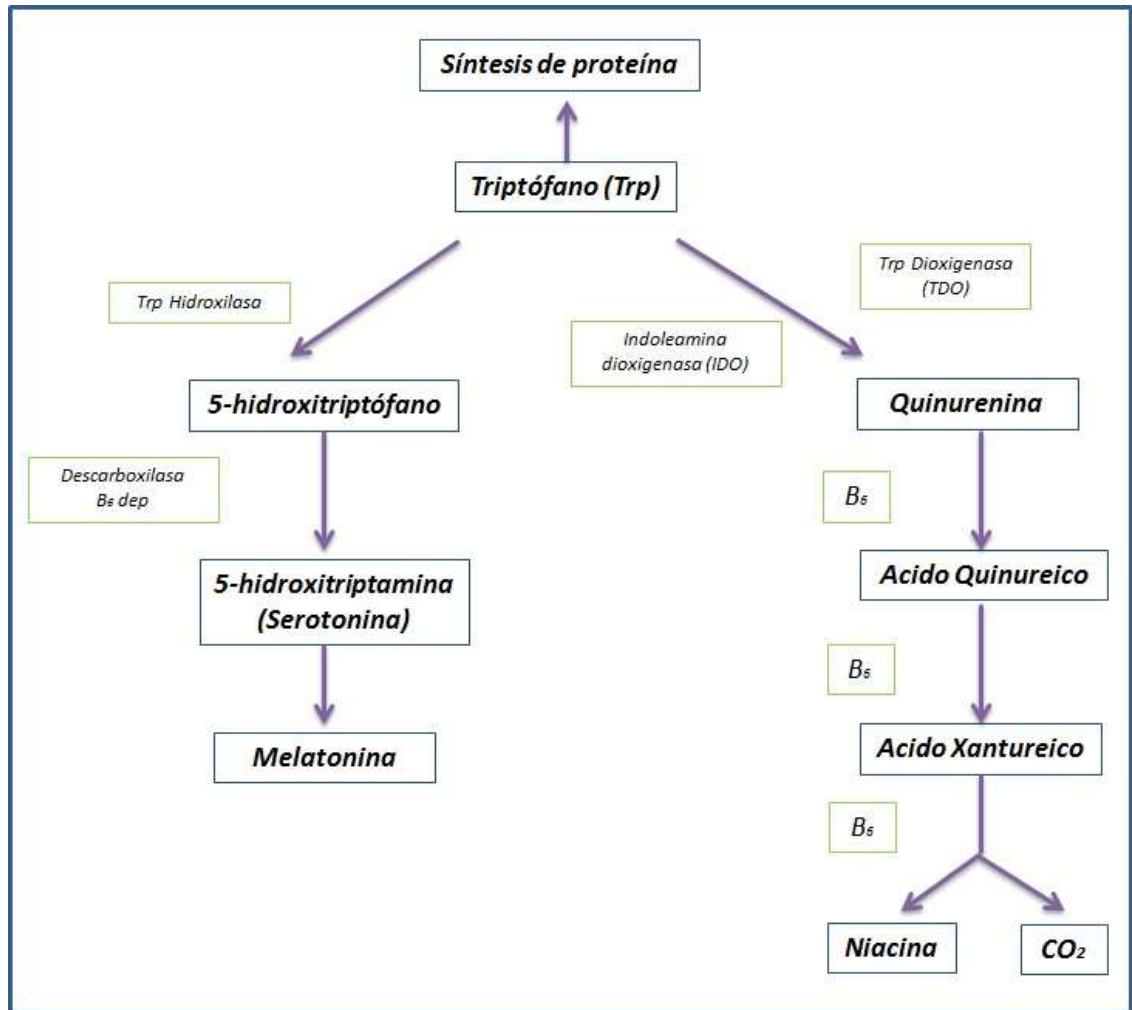


Figura 6. Metabolismo endógeno del triptófano (Le Floc'h y Seve., 2007).

5-hidroxitriptófano o 5-HTP (2-amino-3- (5-hidroxi-1H-in-dol-3-il) propanoico) es un aminoácido de origen natural. Se descarboxila a la serotonina por la descarboxilasa aromática-L-amino-ácido en presencia de la vitamina B6. Esta reacción se produce tanto en el tejido nervioso como en el hígado (Bertazzo y col, 2011).

De acuerdo a Siegel (1999), las neuronas de los núcleos del rafe son la fuente principal de liberación de la 5- hidroxitriptamina (5-HT) en el cerebro. Los núcleos del rafe son conjuntos de neuronas distribuidas en nueve grupos pares y localizados a lo largo de toda la longitud del tronco encefálico, centrado alrededor de la formación reticular.

Los axones de las neuronas de los núcleos del rafe terminan en, por ejemplo: núcleos cerebelosos profundos, corteza cerebelosa, médula espinal. Por otro lado, los axones de las neuronas en el núcleo rostral dorsal del rafe terminan entre otros en: Tálamo y Núcleo estriado, Hipotálamo y Núcleo accumbens, Neocórtex y Giro cingulado; Cíngulo e Hipocampo, y Amígdala entre otros.

La serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT (3- (2-aminoetil) - 1H-indol-5-ol) es un neurotransmisor en el SNC. Se sintetiza a partir del aminoácido L-triptófano por una vía metabólica corta que consta de dos enzimas: la triptófano hidroxilasa (CE 1.14.16.4) y la descarboxilasa de aminoácidos (CE 4.1.1.28) con 5- hidroxitriptófano (5-HTP) como un intermedio, tal cual se observa en la figura anterior.

Gitlin y Clin, (1994), describieron 9 grupos de células que contienen serotonina de B1 a B9: (a) el grupo más grande de células serotoninérgicas es el grupo B7 contiguo al B6; estos grupos son el núcleo dorsal del rafe, (b) el B8 es el núcleo medio del rafe, núcleo central superior, (c) el B9 tectamento lateral del puente y del cerebro medio y (d) el B1 a B5 caudalmente y contienen un número bajo de células serotoninérgicas.



Figura 7. Vías serotoninérgicas (Siegel G, 1999).

Gracias a una dieta rica en triptófano, ambos precursores de serotonina (triptófano y 5-HTP) pueden afectar los niveles de serotonina en el cerebro. Los altos niveles de triptófano libre (no proteico), se absorben fácilmente, y ello conduciría a aumentar su disponibilidad en el cerebro.

Según [Bertazzo y col. \(2011\)](#), la serotonina que se toma oralmente no pasa a las vías serotoninérgicas del SNC, ya que no atraviesa la barrera hematoencefálica; la síntesis y rotación de la serotonina cerebral dependen directamente de la absorción de sus precursores: triptófano y 5-hidroxitriptófano, a través de la barrera hematoencefálica.

3.4.4 SEROTONINA

La serotonina tiene diversas actividades en el cerebro, que juega un papel importante en la modulación de: ira, la agresión, la temperatura corporal, el estado de ánimo, el sueño, la sexualidad humana, el apetito y el metabolismo, así como estimular el vómito ([Bertazzo y col, 2011](#)).

El papel que desempeña la serotonina en el comportamiento social se puede corroborar, con un tratamiento que consistía en pequeñas dosis de serotonina, para corregir el comportamiento alterado y agresivo derivado del efecto de hormonas como la testosterona y otros derivados esteroideos ([Díaz y col, 2009](#)).

[Aan het Rot y col, \(2006\)](#), proponen que el incremento de serotonina en individuos sanos con comportamiento conflictivo debería reducir la conflictividad y aceptar el comportamiento correcto. Para comprobarlo se estudiaron individuos que tomaron triptófano y analizaron el comportamiento y las sensaciones percibidas de las otras personas durante diferentes interacciones de la vida social. Se

comprobó el incremento de triptófano disminuyó el comportamiento conflictivo y aumentó el comportamiento agradable y la percepción de la agradabilidad. Los hombres actuaron menos dominantes y tanto hombres como mujeres percibieron a los otros como más dominantes. Por tanto, el efecto del triptófano sobre comportamientos y percepciones, era generalmente positivo y acompañado de mejores afectos. El aumento de la serotonina en gente conflictiva puede no solo reducir el comportamiento conflictivo que suele acompañar en alteraciones físicas y mentales sino que también aumenta los comportamientos positivos sociales y mejora las percepciones sociales. Los resultados de esta investigación explicarían por qué algunas personas se vuelven más agresivas cuando no han comido.

Según [Morin \(1999\)](#), el comportamiento humano depende de la cantidad de luz que el cuerpo recibe por día. De esta manera se produce durante las estaciones menos soleadas (otoño e invierno) un aumento de la depresión y falta de estímulo sexual. Cuando llega la primavera y el verano, la serotonina se condiciona a la luz que recibe del organismo, lo que conlleva un aumento progresivo del bienestar y la felicidad con mayor estímulo sexual, producto de las concentraciones de este neurotransmisor en el cerebro.

Por otro lado también se ha relacionado los niveles de serotonina con algunos trastornos alimentarios; [Kaye y col \(2009\)](#), determinaron que las pacientes bulímicas se asocian con niveles bajos de serotonina, y síntomas como impulsividad, agresividad e intentos de suicidio y atracones; pacientes anoréxicas, asociadas a niveles altos de serotonina y síntomas como tendencia al perfeccionismo, ideas obsesivas y pérdida del apetito. Se podría interpretar como que las pacientes bulímicas, a través del atracón contrarrestarían la hiposerotoninemia, y las pacientes anoréxicas paliarían con el ayuno los estados de hiperserotoninemia.

Se podría decir que la serotonina es la "hormona del placer", además de ser la "hormona del humor". Para que se produzca la eyaculación u orgasmo, el hipotálamo libera oxitocina a través de la hipófisis (hormona que se segrega en la neurohipófisis y que también es responsable de las contracciones durante el parto). Después de eyacular, aumenta considerablemente la cantidad de serotonina en el cerebro lo que provoca un estado de placer y tranquilidad (Cubero y col., 2006).

3.4.5 ALIMENTOS RICOS EN TRIPTOFANO

A continuación se presentan los niveles de triptófano (ligado y libre) en diferentes tipos de alimentos según los estudios realizados por diferentes autores (Bertazzo y col, 2011; Martins y col, 2010; Comai y col, 2007a, Comai y col, 2007b).

Tabla 2. Contenido total de Triptófano en diversos alimentos.

ALIMENTOS	CONT. DE PROTEINA ^a (g/100 Base seca)	TRIPTOFANO LIGADO A PROTEINA ^b (mg/100 g Base seca)	TRIPTOFANO NO LIGADO A PROTEINA		Trp total (g de base seca)	% en base a Proteína total en base seca	AUTOR
			LIBRE (mg/100 g base seca)	Fracción soluble en H ₂ O (mg/100 g base seca)			
Cacao Venezolano (<i>Theobroma Cacao</i>)	14,1 ± 0,43	201 ± 19	13,46 ± 1,83	16,35 ± 2,42	0,230	1.63%	Bertazzo y col. (2011)
Café arábica (<i>Coffea arábica</i>) Verde	13,92 ± 0,9	120,8 ± 3,3	22,08 ± 1,53	Nd*	0,142	1.02%	Martins y col (2010)
Café robusta (<i>Coffea canephora</i>) Verde	13,73 ± 0,74	154,0 ± 4,5	3,09 ± 0,10	Nd*	0,157	1.14%	Martins y col (2010)

Café arábica (Coffea arábica). Tostado (171°C/15')	0,11 ± 0,01	0,0281 ± 4,1	Nd*	Nd*	0,000 281	0	Martins y col (2010)
Café robusta (Coffea canephora). Tostado (171°C/15')	0,12 ± 0,01	0.0495 ± 4,6	Nd*	Nd*	0,000 495	0	Martins y col (2010)
Haba (Vicia faba) BEAN	27,7 ± 0,82	240 ± 13,1	4,08 ± 0,26	4,73 ± 0,29	0,248	0.8%	(Comai y col, 2007a)
Garbanzo (Cicer arietinum L.) CHICKPEA	23,9 ± 0,56	257 ± 9,6	58,2 ± 1,25	75,2 ± 1,11	0,390	1,6%	(Comai y col, 2007a)
Lentejas (Lens culinaris Medik)	27,6 ± 1,02	213 ± 7,0	3,92 ± 0,13	4,26 ± 0,41	0,221	0.8%	(Comai y col, 2007a)
Guisante (Pisum sativum) PEA	22,8 ± 0,78	192 ± 13,3	5,75 ± 0,20	7,19 ± 0,13	0,204	0.9%	(Comai y col, 2007a)
Haba de soya (Glycine max)	38,3 ± 0,98	502 ± 51,0	17,07 ± 0,07	16,9 ± 1,29	0,535	1,4%	(Comai y col, 2007a)
Mani (Arachis hypogaea) GROUNDNUT	28,4 ± 1,12	287 ± 25,9	2,24 ± 0,17	3,18 ± 0,19	0,292	1,03%	(Comai y col, 2007a)
ALIMENTOS	CONT. DE PROTEINA^a (g/100 Base seca)	TRIPTOFANO LIGADO A PROTEINA^b (mg/100 g Base seca)	TRIPTOFANO NO LIGADO A PROTEINA		Trp total (g de base seca)	% en base a Proteina total en base seca	AUTOR
			LIBRE (mg/100 g base seca)	Fracción soluble en H₂O			
Quínoa (Chenopodium quinoa Willdenow)	16,4 ± 1,2	187 ± 6	2,97 ± 0,24	4,03 ± 0,13	0.194	1.1%	(Comai y col, 2007b)

Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	16,8 ± 1,3	195 ± 7	3,51 ± 0,22	5,10 ± 0,20	0.203	1.2%	(Comai y col, 2007b)
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	7,94 ± 0,54	97 ± 2	0,30 ± 0,02	0,34 ± 0,01	0.097	1.2%	(Comai y col, 2007b)
Maíz (<i>Zea mays</i>)	8,94± 0,60	44 ± 2	0,66 ±0,04	0,68±0,01	0.045	0,5%	(Comai y col, 2007b)
Cebada (<i>A. Hordeum Vulgare</i>)	11,8 ± 0,9	113 ± 5	5,88 ± 0,18	6,03 ± 0,24	0.124	1,05%	(Comai y col, 2007b)
Avena (<i>Avena sativa</i>)	11,3 ± 0,8	110 ± 5	3,57 ± 0,32	4,12 ± 0,10	0.117	1,04%	(Comai y col, 2007b)
Centeno (<i>Secale cereale</i>) RYE	10,7 ± 0,7	88 ± 2	2,06 ± 0,20	3,65 ± 0,35	0.093	0,8%	(Comai y col, 2007b)
Sorgo (<i>Sorghum vulgare</i>)	7,93 ± 0,40	61 ± 2	0,93 ± 0,03	1,01 ± 0,03	0.062	0,7%	(Comai y col, 2007b)
MIJO PERLA (<i>Pennisetum typhoides</i>) Pearl millet	11,4 ± 0,7	110 ± 4	4,87 ± 0,29	4,95 ± 0,21	0.119	1,05 %	(Comai y col, 2007b)

^aLos resultados fueron calculados utilizando el factor de conversión de proteína (6.25 como nitrógeno). ^bDeterminados en triplicado por HPLC después de hidrólisis alcalina de FLOURS. *Nd: No detectado.

Es adecuado resaltar que [Martins y col \(2010\)](#), no hallaron triptófano libre en ninguna de las muestras de café tostadas (ligero, oscuro y medio), ya que el mismo se degradó completamente durante el tostado y los niveles de triptófano ligado a proteína fueron disminuyendo progresivamente con el tostado.

Como se pudo observar en la tabla anterior, los niveles de triptófano en semillas tales como garbanzo, soya y maní son más altos que los niveles de triptófano presentes en cereales.

El porcentaje de contenido de triptófano en base seca respecto a la proteína total en garbanzo y el Cacao es muy similar (1.6%), presentándose en estas semillas el mayor contenido de triptófano respecto a la proteína del alimento como tal, del mismo modo la soya y el maní presentan un 1.4 y 1.03% respectivamente de triptófano.

3.5 ESTUDIO DE INTERVENCION

Los estudios epidemiológicos clásicamente se dividen en experimentales y no-experimentales. En los estudios experimentales (estudio de intervención por ejemplo) se produce una manipulación de una exposición determinada en un grupo de individuos que se compara con otro grupo en el que no se intervino, o al que se expone a otra intervención, del mismo modo, un estudio de intervención se considera un estudio epidemiológico analítico que incluye un ensayo clínico, un ensayo de campo o un ensayo comunitario (Pita, 2001).

3.5.1 BIOÉTICA

Es necesario que cualquier investigación médica que comporte el estudio de personas cumpla con una serie de requisitos éticos claramente establecidos en la Declaración de Helsinki. Esta declaración, redactada por la Asociación Médica Mundial en 1964, fue el primer documento que propuso criterios y medidas para

proteger a los individuos que participan en la investigación biomédica. Sus principios fundamentales consisten en la necesidad de que el protocolo de ensayo clínico sea aprobado por un Comité de Ética y la necesidad de obtener el consentimiento informado previo, libre e informado del paciente. En cualquier ensayo clínico con voluntarios sanos o con enfermos, es importante considerar los aspectos éticos del estudio, por ello, todo protocolo de ensayo clínico debe ser evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC), un organismo independiente constituido por profesionales sanitarios y miembros no sanitarios, encargado de velar por la protección de los derechos, la seguridad y el bienestar de los sujetos que participan en un ensayo clínico, y de proporcionar una garantía pública al respecto mediante, entre otras, la evaluación y emisión de un dictamen referente al protocolo del ensayo, la idoneidad del investigador, la adecuación de las instalaciones, los métodos y materiales que serán utilizados para obtener y documentar el consentimiento informado de los sujetos del ensayo (Carneiro y col., 2013).

En este trabajo resulta de gran importancia profundizar un poco más acerca de ciertos parámetros bioquímicos evaluados:

3.5.2 PARAMETROS BIOQUIMICOS

Según el [laboratorio de bioquímica clínica de la universidad de Buenos Aires \(UBA\)](#), la bioquímica clínica es la rama del laboratorio en la que se usan métodos químicos y bioquímicos para el estudio de las enfermedades. En la práctica, está usualmente dedicada, aunque no exclusivamente, a los estudios de la sangre, orina y otros fluidos biológicos debido a la relativa facilidad de obtención de este tipo de muestras. Las investigaciones bioquímicas están

involucradas, en grados variables, en todas las áreas de la medicina clínica.

Cada ensayo bioquímico debería proveer respuesta a una pregunta generada en el médico sobre el paciente. Los resultados de los tests bioquímicos pueden ser de uso para el diagnóstico, screening y prognosis de una enfermedad así como para el seguimiento de su tratamiento.

Los resultados de los tests de laboratorio usualmente se comparan con un rango de referencia que representa el estado saludable normal (ver **Tabla 2**). Sin embargo, este rango de referencia sólo debe ser tomado como una guía y es importante tener en cuenta que un resultado anormal no siempre indica la presencia de una enfermedad, ni un resultado normal la ausencia de ella.

La discriminación entre resultados normales y anormales está afectada por varios factores fisiológicos que deben ser considerados al interpretar cualquier resultado. Por ejemplo: sexo, edad, dieta, stress, ansiedad, ejercicio, historia médica del paciente, hora de extracción de la muestra, entre otras. son factores que el médico debe evaluar al interpretar un resultado.

Tabla 3. Valores normales para parámetros Bioquímicos.

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS	VALORES NORMALES	FUENTE
Glicemia (mg/dL)	70 – 100 mg/dL	<i>Criterios ADA 2006-2007</i>
Creatinina (mg/dL)	< 1 mg/dL	<i>Sanz, 2003.</i>
Triglicéridos (mg/dL)	< 150 mg/dL	<i>Pasternak, 2001; ATP III* 2004</i>
Colesterol total (mg/dL)	< 200 mg/dL	<i>Pasternak, 2001; ATP III, 2004</i>
HDL (mg/dL)	40-60 mg/dL	<i>Pasternak, 2001; ATP III , 2004</i>
LDL (mg/dL)	< 100 mg/dL	<i>Pasternak, 2001; ATP III, 2004</i>
VLDL (mg/dL)	2 – 30 mg/dL	<i>UMMC, 2017**</i>
Ácido úrico (mg/dL)	< 7,5 mg/dL	<i>Sanz, 2003.</i>
Insulina	0-10 µU/mL en ayunas	<i>Criterios ADA 2006-2007</i>

*ATPIII: Report of the Adult Treatment Panel III

** UMMC: University of Maryland Medical Center

3.5.2.1 QUIMICA CLINICA

El término Química Clínica comprende un alto número de determinaciones de concentraciones circulantes de compuestos orgánicos y enzimas implicados en una amplia variedad de procesos metabólicos, para este estudio, las más importantes son:

a) Glicemia: Es la medida de concentración de glucosa en sangre.

Según [Campillo, 2014](#); Cada vez que comemos hidratos de carbono, en mayor o menor medida aumenta la glucosa en la sangre. Al incrementarse esta, el páncreas comienza a segregar la hormona insulina, que tiene por misión introducir la glucosa dentro de las células.

En algunas personas, por un defecto genético que se acrecienta con la edad, se producen alteraciones fundamentales de esta importante función. Primero hay una especie de sordera de las células a la insulina (es la resistencia a la insulina). La insulina no ejerce bien su función y queda mucha glucosa circulando en la sangre (hiperglucemia). En estas condiciones el páncreas se vea forzado a fabricar una gran cantidad de la hormona, de tal forma que hay más insulina circulando en la sangre de lo que sería normal (hiperinsulinemia).

La consecuencia es que muchas personas de más de cuarenta años, sin que lo adviertan, tienen permanentemente más glucosa y más insulina circulando en su sangre de lo que sería conveniente. Esta hiperglucemia y esta hiperinsulinemia son, en gran parte, las responsables de que se desarrollen alteraciones como: la diabetes, la acumulación de grasa en la barriga (obesidad central), la hipertensión, las alteraciones de los lípidos en la sangre, la aterosclerosis y la enfermedad cardiovascular.

b) Insulina: La insulina es una hormona producida por el páncreas que ayuda a que la glucosa (o azúcar), que proviene de los alimentos, pueda entrar a las células y obtener energía para nuestro cuerpo.

Según [Joslin Diabetes Center](#), en una persona con diabetes tipo 2 el cuerpo no produce suficiente insulina, por lo que una parte de la glucosa no puede entrar a las células. La glucosa se acumula en la sangre, causando niveles altos de glucosa en la sangre. En algunos casos, la persona puede estar produciendo más insulina de lo normal para convertir la glucosa de los alimentos en energía. El páncreas esta trabajando demás para producir más insulina por que las células del cuerpo son resistentes a los efectos de la insulina. Es decir, a pesar de la presencia de insulina en la sangre, la glucosa no puede entrar a las células del cuerpo.

Los científicos no saben exactamente qué causa esta resistencia a la insulina, se cree que existen distintos defectos en el proceso de entrada de la glucosa a la células mediada por la insulina, que causan la resistencia a la insulina. Medicamentos para el tratamiento de la diabetes tipo 2 se enfocan en diferentes áreas de interacción de la célula y la insulina para promover un mejor control de la glucosa en la sangre. Algunos medicamentos estimulan al páncreas a que produzca más insulina.

Una gran cantidad de estudios han comprobado de forma inequívoca que la insulino resistencia (IR) y la hiperinsulinemia son predictores muy confiables para el desarrollo de diabetes tipo 2; razón por la cual se han diseñado diversos métodos para valorar la resistencia a la insulina, tales como: el “gold standard” la prueba del “Clamp” Euglicémico-Hiperinsulinémico, el modelo mínimo (MinMod), el test de tolerancia a la insulina, el GIGMA (Continuos Infusión of Glucose with model Assessment) entre otros. Sin embargo a pesar que el “Clamp” es un método validado, su implementación es difícil en estudios de grandes poblaciones debido a que su realización implica el uso de equipos complejos, toma de múltiples muestras sanguíneas y una cantidad de tiempo apreciable así como el monitoreo del paciente lo cual resulta muy costoso y poco práctico de implementar, lo cual ha dado el impulso para el desarrollo de nuevas técnicas para la estimación de la sensibilidad insulínica a través de modelos matemáticos ([Saad y col, 1994](#); [Hermans y col, 1995](#)).

El Modelo de Determinación de Homeostasis HOMA (homeostasis model assessment), es un modelo basado en datos fisiológicos obtenidos de experimentos y formulaciones matemáticas que describen las relaciones entre dos variables la glucosa y la insulina en ayuno como una forma alternativa de cuantificar la IR y disfunción de la célula beta en el ser humano ([Bermúdez y col, 2000](#)). Este

modelo ha sido comparado y validado con el método del “clamp” y con la prueba de tolerancia a la insulina entre otros, y entre sus ventajas se encuentran: ser de simple aplicación, económico y no invasivo, lo que constituye una gran ventaja (Obregón y col, 2004).

c) Creatinina: Es el resultado de la transformación espontánea de la fosfocreatina muscular.

Según Pinheiro, 2016a; nuestros músculos necesitan energía para ejercer sus funciones. El «combustible» que genera dicha energía es una proteína llamada creatina fosfato. La creatina fosfato es sintetizada en el hígado y posteriormente almacenada en los músculos.

La musculatura humana, está permanentemente en actividad, incluso cuando estamos en reposo. Esto significa que se pasa todo el tiempo consumiendo creatina fosfato. La creatinina es una especie de «basura» metabólica que resulta del consumo constante. Después de ser generada, la creatinina es lanzada hacia la corriente sanguínea, siendo eliminada del cuerpo por medio de los riñones.

Pacientes obesos, asténicos, hipertiroideos, insuficientes renales o con distrofias musculares tienen una baja excreción urinaria de creatinina. Por el contrario, este parámetro aumenta en el hipotiroidismo, diabetes y en individuos musculosos.

d) Triglicéridos: son la forma de grasa más común en nuestro cuerpo, y sirven para proporcionar energía al organismo. Cuando la cantidad de triglicéridos es elevada, éstos son almacenados en los tejidos adiposos (tejidos grasos) en caso de ser necesarios en un futuro. Cuando alguien desarrolla las típicas «gorduras» en el

cuerpo, en zonas como el cuadril y el abdomen, en realidad está almacenando los triglicéridos que están en exceso.

Los triglicéridos están presentes en varios alimentos comunes de nuestra dieta, pero la mayor parte suele ser producida por nuestro hígado. Cuando comemos carbohidratos en exceso (dulces, pastas, panes, etc.), el hígado toma esos azúcares restantes y los transforma en triglicéridos, para que puedan ser almacenados en los tejidos adiposos, sirviendo así como reserva energética.

Los triglicéridos viajan por la corriente sanguínea acoplados a una proteína llamada VLDL, una lipoproteína semejante al HDL y LDL que transporta el colesterol por medio de la sangre (Pinheiro, 2016b).

e) Colesterol total El colesterol es una molécula que se encuentra en todas las células de nuestro cuerpo. Es esencial para la formación de las membranas celulares, para la síntesis de hormonas, como testosterona, estrógeno, cortisol y otros, para la producción de bilis para la digestión de alimentos grasientos, para la formación de mielina (una vaina que cubre los nervios), para el metabolismo de algunas vitaminas (A, D, E y K), etc.

El colesterol de nuestro organismo tiene dos orígenes:

- **endógeno** – el colesterol es producido por nuestro propio cuerpo, principalmente por el hígado.
- **exógeno**– el colesterol también puede ser adquirido a través de los alimentos.

Tipos de colesterol:

El LDL transporta colesterol y un poco de triglicéridos de la sangre a los tejidos. El VLDL transporta los triglicéridos y un poco de colesterol, mientras que el HDL es un transportador diferente; realizando el camino inverso, obteniendo el colesterol de los tejidos y devolviéndolo al hígado que va a excretarlo en los intestinos.

Mientras el colesterol LDL y VLDL llevan el colesterol a las células y facilitan la deposición de grasa en los vasos sanguíneos, el HDL hace lo contrario, promueve la eliminación del exceso de colesterol, inclusive de las placas arteriales. Por lo tanto, llamamos al HDL “colesterol bueno” y al VLDL y LDL “colesterol malo”.

La producción de las lipoproteínas está regulada por los niveles de colesterol. El colesterol derivado de las grasas saturadas y grasas trans promueve la producción de LDL, mientras que el consumo de grasas insaturadas, encontrada en aceite de oliva, pescado y almendras, por ejemplo, promueve la producción de HDL en sangre (Pinheiro, 2016c).

d) Ácido úrico Nuestro organismo lo produce cuando metaboliza las purinas, un compuesto con nitrógeno que se forma en las células del cuerpo, o bien entra en nuestro cuerpo a través de muchos de los alimentos que comemos.

El ácido úrico se encuentra en la sangre, y el organismo lo elimina debido a la función excretora de los riñones, por medio de la orina. Pero si se produce un exceso de ácido úrico o si los riñones no son capaces de eliminarlo de la sangre de forma regular, el nivel de ácido úrico en la sangre aumenta.

Cuando el nivel de ácido úrico se encuentra en niveles elevados, es decir, cuando el cuerpo produce demasiado ácido úrico o no lo elimina eficientemente. Estos niveles altos pueden formar cristales sólidos que se depositan en las articulaciones, dando lugar a episodios de dolor agudo, y pudiendo la persona llegar a enfermar. También se le conoce como hiperuricemia.

Tener el ácido úrico elevado puede que no presente síntomas, aunque una de las consecuencias principales de este problema es la aparición de la gota, producida por la acumulación de cristales de urato monosódico (sal derivada del ácido úrico) depositadas sobretudo en las articulaciones, tejidos blandos y riñones. Si no se sigue un tratamiento para la gota, esos cristales de ácido úrico pueden llegar a formar depósitos de bultos duros llamados tofos. Es posible que aparezcan también problemas renales (causados por la formación de cálculos renales) o problemas al orinar.

5.2.3 TECNICA DE ELISA

La técnica de ELISA, es un ensayo inmunoenzimático ampliamente empleado en el área médica para la cuantificación de moléculas, especialmente de aquellas que experimentan cambios en diferentes estados como pueden ser infecciones por bacterias, virus, hongos o parásitos o fases activas de enfermedades autoinmunes.

Como ejemplo se pueden medir por ELISA hormonas, autoanticuerpos, inmunoglobulinas contra antígenos de patógenos, toxinas, antígenos. Las técnicas de ELISA son también muy usadas en los ensayos de nuevos medicamentos para comprobar sus efectos cuantificando las moléculas de interés en cada caso.

Existen numerosas variantes de este tipo de ensayo. Entre ellos se encuentran los métodos directo e indirecto. El método directo permite la detección del antígeno con un anticuerpo específico conjugado con una enzima como sistema de marcaje. En el método indirecto el antígeno reacciona con el anticuerpo específico. El complejo antígeno-anticuerpo es entonces detectado por un segundo anticuerpo que reconoce dominios constantes de anticuerpos. Este anticuerpo, que suele ser específico de especie, es el que está marcado enzimáticamente. Esto permite que un mismo anticuerpo marcado sea capaz de detectar diferentes antígenos. En ambos métodos, la reacción enzimática puede ser detectada espectrofotográficamente con un lector ELISA.

- **8-Isoprostano:**

Los isoprostanos son una clase de sustancias que se han revelado como biomarcadores potenciales del nivel de estrés oxidativo *in vivo*, han sido indicados como mediadores de las enfermedades cardiovasculares y responsables del aumento del riesgo cardiovascular. Por lo tanto, el 8-isoprostano de plasma surge como un compuesto derivado de la peroxidación lipídica capaz de indicar el estrés oxidativo endógeno con un gran cuerpo de evidencia que se asocia con enfermedad cardiovascular ([de Faria y col, 2016](#)).

Al menos uno de los isoprostanos, el 8-isoprostano (*8-epi PGF₂α*), ha demostrado tener actividad biológica. Es un potente vasoconstrictor pulmonar y renal ([Banerjee y col, 1992](#)), y ha sido implicado como mediador causante del síndrome hepatorenal y la toxicidad del oxígeno pulmonar ([Vacchiano y col, 1994](#)).

Según [Montuschi y col, 1999](#); el 8-Isoprostano es un compuesto similar a la prostaglandina (PG) -F₂ perteneciente a la clase F₂

isoprostano que se produce por la peroxidación catalizada por radicales libres del ácido araquidónico.

El 8-Isoprostano se ha propuesto como un marcador de deficiencia de antioxidantes y estrés oxidativo y se han encontrado niveles elevados en fumadores intensos. El plasma de voluntarios sanos contiene cantidades modestas de 8-isoprostano (40-100 pg / ml) que aumentan con la edad del sujeto de prueba (Wang y col, 1995).

La gran mayoría de los estudios han centrado sus trabajos en la enfermedad aterosclerótica, probablemente debido a complicaciones clínicas graves derivadas de la enfermedad, así como las amplias evidencias que vinculan el estrés oxidativo a condiciones que subyacen al proceso aterosclerótico como la disfunción endotelial y la inflamación. Por otro lado, la hipertensión arterial, accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca y enfermedades no cardiovasculares, como las enfermedades pulmonares y neurológicas, así como el cáncer y las afecciones hepáticas, también han adquirido importancia en esta preocupación (de Faria y col, 2016).

- **Catalasa**

Durante los procesos biológicos y en el constante intercambio con el medio, se generan especies químicas conocidas como radicales libres, que se caracterizan por presentar un electrón desapareado y por ser muy reactivas. De todos los radicales resultan de gran interés las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS) debido a la estructura birradicalaria de esta molécula y al gran número de procesos que las generan y en los que pueden verse involucradas.

Las principales ROS son: el anión superóxido (O₂⁻), el radical hidroxilo (OH), el oxígeno singlete y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Estas especies radicalarias están implicadas en el daño celular de forma tal que las agresiones oxidantes pueden dirigirse hacia la carcinogénesis, enfermedades inflamatorias, senectud celular y enfermedades neurodegenerativas, entre otros procesos patológicos (García y col, 1993).

En el organismo existe un sistema de protección antioxidante formado por enzimas y compuestos de bajo peso molecular. Una de las enzimas que interviene en la protección y, en consecuencia, en el mantenimiento del balance oxidante/antioxidante es la catalasa (CAT).

La catalasa es tan crucial para nuestra salud que se encuentra en casi todos los organismos vivos en el planeta que están expuestos al oxígeno, por ejemplo perejil (Ozturk y col, 2007), algodón (Ni y col, 1990), girasol (Eising y col, 1990) y calabaza (Yamaguchi y col, 1986), así mismo, se encuentra ampliamente distribuida en el organismo humano, aunque su actividad varía en dependencia del tejido; ésta resulta más elevada en el hígado y los riñones, más baja en el tejido conectivo y los epitelios, y prácticamente nula en el tejido nervioso (Céspedes y col, 1996).

Esta enzima antioxidante puede catalizar la conversión de peróxido de hidrógeno (un compuesto nocivo para las células vivas) en agua y oxígeno (Grigoras, 2017).

La catalasa es, quizás, la enzima más eficiente encontrada en las células del cuerpo humano. Se ha demostrado que la catalasa crea una reacción rápida en contra de los radicales libres del peróxido de hidrógeno convirtiéndolos en agua y oxígeno.

El Dr. David Sinclair de la Escuela de Medicina de Harvard declaró en “The Scientist Magazine” que hay un vínculo directo entre la enzima catalasa, el daño de radicales libres y prolongar nuestra vida. Esto también sugiere que la enzima catalasa puede servir para evitar las enfermedades degenerativas. De manera similar, estudios realizados en Rusia y también muestran una correlación entre estos tipos de enzimas y la prolongación de la vida ([Sinitsyna y col, 2006](#)).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 OBTENCION Y CARACTERIZACION DE LA MATERIA PRIMA

4.1.1 PIEL Y SEMILLAS DE UVAS

4.1.1.1 Obtención de harina

Considerando que el resveratrol se encuentra principalmente en la semilla y piel de las uvas se obtuvo harina a partir de ellas (“*harina de uva*”), tomando como materia prima principal el Bagazo de la uva tinta *Petit Verdot* (desecho provenientes de una empresa vinícola) teniendo en cuenta el procedimiento descrito en la **figura 8**. Inicialmente se sometieron al proceso de secado alrededor de 35 a 38°C por 15 horas.

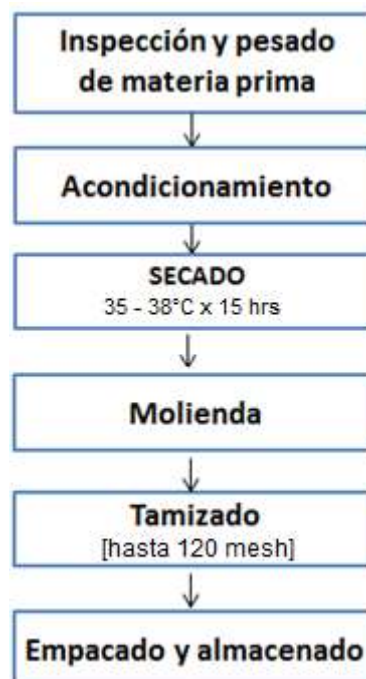


Figura 8. Proceso de obtención de harina de semillas y piel de uvas.

Las semillas y piel previamente secas, se llevaron al proceso de molienda fina empleando un juego de tamices Tayler malla N° 60, 80, y 120 mesh. Se colocaron 100 gramos de muestra en la serie de tamices (orden creciente), sobre el agitador Capreca Tyler a 320 rpm durante 5 minutos. Finalmente se empacaron y almacenaron.

4.1.1.2 Determinación de humedad (%)

La determinación de humedad se llevó a cabo siguiendo el método gravimétrico AOAC 931.04, (2000) descrito por [Pérez y Guzmán \(2012\)](#) en el Manual de laboratorio, del curso de tecnología de cacao.

4.1.1.3 Determinación de ceniza

Se determinó el contenido de ceniza en las muestras obtenidas en la Norma COVENIN 429 (1981), descrito por [Pérez y Guzmán \(2012\)](#) en el Manual de laboratorio, del curso de tecnología de cacao.

4.1.1.4 Determinación de Actividad de agua

La determinación de actividad del agua (A_w), se llevó a cabo usando el manual del equipo; se realizó a 25 °C en un higrómetro de punto de rocío (DECAGÓN, mod. CX-3) de precisión $\pm 0,003$, previamente calibrado con disoluciones salinas saturadas.

4.1.2 MANI

4.1.2.1 Obtención de pasta de maní

El maní fue obtenido en la plaza de mercado de Chacao, proveniente de Asia. La obtención de la pasta de maní se llevó a cabo teniendo en cuenta el proceso descrito en la figura 9.

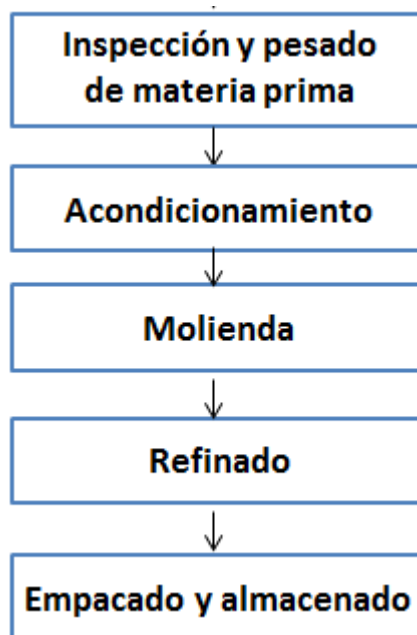


Figura 9. Proceso de obtención de pasta de maní.

4.1.2.2 Determinación de humedad (%)

La determinación de humedad se llevó a cabo siguiendo el método gravimétrico AOAC 931.04, (2000) descrito por [Pérez y Guzmán \(2012\)](#) en el Manual de laboratorio, del curso de tecnología de cacao.

4.1.2.3 Determinación de proteína

Para la determinación de la proteína se siguió el procedimiento de Kjeldahl, descrito en el método 939.02 de la AOAC (2000).

4.1.2.4 Determinación de grasa

Se determinó el porcentaje de grasa por el método de extracción de grasa SOXHLET descrito en la AOAC 963.15 (2000).

4.1.2.5 Determinación de ceniza

Se determinó el contenido de ceniza en las muestras obtenidas en la Norma COVENIN 429 (1981), descrito por [Pérez y Guzmán \(2012\)](#) en el Manual de laboratorio, del curso de tecnología de cacao.

4.1.2.6 Determinación Carbohidratos Totales

Se determinó el contenido de carbohidratos totales por diferencia.

4.1.2.7 Determinación de Actividad de agua

La determinación de actividad del agua (A_w), se llevó a cabo usando el manual del equipo; se realizó a 25 °C en un higrómetro de punto de rocío (DECAGÓN, mod. CX-3) de precisión $\pm 0,003$, previamente calibrado con disoluciones salinas saturadas.

4.2 METODOLOGIA

Se usaron los ingredientes básicos para la formulación de un chocolate en barra (ver tabla 4), tomando como referencia algunos de los ingredientes nombrados en diferentes etiquetas de chocolates comerciales.

Tabla 4. Materiales primarios para la obtención de un chocolate.

MATERIA PRIMA	DESCRIPCION
Licor de Cacao	Proveedor Chocolates Kirikire
Manteca de Cacao	Proveedor Chocolates Kirikire
Piel y semillas Uvas	Proveedor Empresas Pomar
Maní	Proveedor local

4.2.1 Proceso de producción

En la siguiente figura se muestra el proceso de producción convencional de un chocolate, este diagrama de flujo se desarrolló de acuerdo a la información suministrada de diferentes fuentes; tanto artesanales, como industriales y se ajustó a los equipos disponibles en las instalación de chocolates kirikire.

En la **figura 10**, no está estipulado el volumen de mezcla total ni parcial, así como tampoco el caudal de la mezcla final, ni cantidad de ingredientes utilizados. Los tiempos y temperaturas aquí descritas son de igual forma recopilados de diferentes fuentes personales y/o disponibles en la literatura.

FLUJOGRAMA DE PROCESO

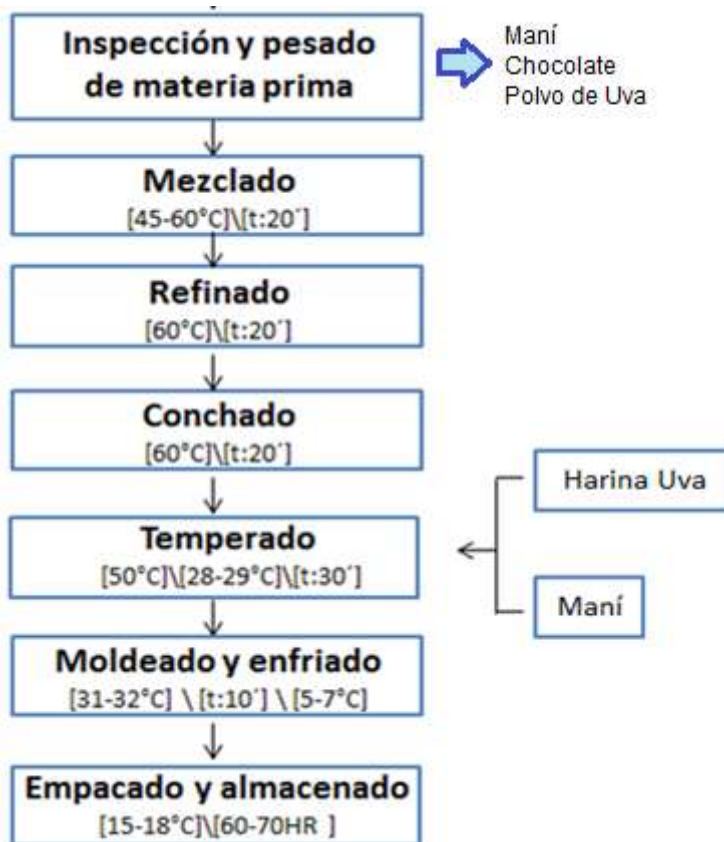


Figura 10. Proceso de producción de un chocolate. (Fuente: Recopilación literaria).

Los ingredientes sólidos, se tamizaron; el maní luego de la molienda se convirtió en una pasta, durante el conchado, el licor de cacao se mezcló con la manteca de cacao, posteriormente se llevó a un proceso de temperado (**Figura 11.**), luego del cual se incorporó harina de uva y maní.

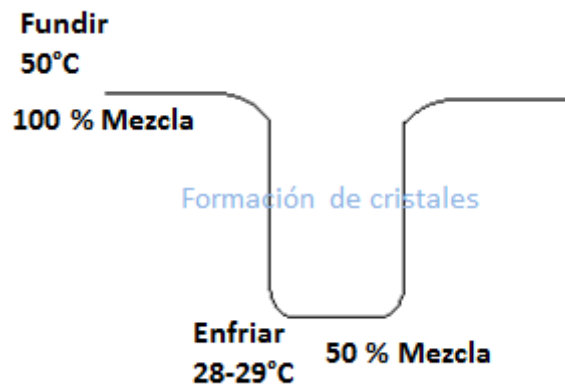


Figura 11. Proceso de Temperado manual. (**Fuente:** Manual “Bombonería fina artesanal”, Escuela de chocolatería del Alba)

Se formularon 2 tabletas con variación en el tamaño de partícula (120 y 80 mesh) de la harina de uva, la formulación elegida se determinó por medio una evaluación sensorial, utilizando el formato descrito en el **Anexo A**.

Las dos muestras se presentaron ante un panel afectivo de 30 jueces semi-entrenados conformado por el personal del laboratorio. Se realizó una “*prueba de calificación con escala hedónica verbal*”. Los códigos empleados en esta evaluación, se determinaron teniendo en cuenta la tabla de números aleatorios (Watts y col, 1992).

Se evaluaron estadísticamente con el fin de determinar el grado de gusto/disgusto entre cada parámetro empleando un ANOVA (ANAVAR) de un factor (o vía) mediante el programa de análisis estadístico Minitab 17.

4.3. PRODUCTO FINAL

La caracterización de la composición proximal, propiedades físicas, fisicoquímicas, reológicas y sensoriales del producto final, se obtuvieron a partir de los siguientes métodos:

4.3.1 COMPOSICIÓN PROXIMAL

4.3.1.1 Determinación de humedad (%)

La determinación de humedad se llevó a cabo siguiendo el método gravimétrico AOAC 931.04, (2000) descrito por [Pérez y Guzmán \(2012\)](#) en el Manual de laboratorio, del curso de tecnología de cacao.

4.3.1.2 Determinación de grasa

Se determinó el porcentaje de grasa por el método de extracción de grasa SOXHLET descrito en la AOAC 963.15 (2000).

4.3.1.3 Determinación de proteína

Para la determinación de la proteína se siguió el procedimiento de Kjeldahl, descrito en el método 939.02 de la AOAC (2000).

4.3.1.4 Determinación de la actividad de agua (Aw)

Las determinaciones de actividad del agua (Aw) se realizaron a 25 °C en un higrómetro de punto de rocío (DECAGÓN, mod. CX-3) de precisión $\pm 0,003$, previamente calibrado con disoluciones salinas saturadas.

4.4 PERFIL LIPIDICO

4.4.1 DETERMINACION PERFIL ACIDOS GRASOS

El análisis del perfil de ácidos grasos se llevó a cabo siguiendo el método del [Folch, 1957.](#), siguiendo la metodología de [Salinas y col., 2012](#), en el trabajo titulado “Ácidos grasos en Chocolates Venezolanos y sus análogos”.

4.5 PROPIEDADES FISICAS

4.5.1 Perfil de textura (TPA)

Se evaluaron dos (2) muestras de las tabletas de chocolate obtenidas y se compararon con una muestra comercial. Las muestras se analizaron por medio de un analizador de textura TA.XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido), se realizaron determinaciones objetivas de dureza y adhesividad con el test de Back extrusión utilizando un texturómetro equipo analizador de textura TA.XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) Texture Analyser, con un accesorio sonda de cilindro de 2 mm (P / 2) con célula de carga de 5 kg, siguiendo el procedimiento señalado en las instrucciones del equipo para medición de chocolate por comparación de la dureza de 4 formulaciones diferentes de chocolate por penetración

4.5.2 Perfil de Color.

Color se realizó según metodología descrita Hunter Lab Manual, (2001), usando el colorímetro triestímulo Color Flex S/N:CX 819; bajo el Software Color Universal Cielab (*). Se determinaron los parámetros: L, para describir el color reflejado, utilizando el iluminante D65. Calibrado con la placa blanca standard con valores de: $L^* = 93,54$ $a^* = -0,81$ y $b^* = 1,58$.

Cada parámetro de color evaluado tiene el siguiente significado:

- L^* = Índice de luminosidad (100= blanco; 0= negro)
- a^* = Longitud de onda predominante (positivo= rojo; 0= gris; negativo = verde)
- b^* = Longitud de onda predominante (positivo= amarillo; 0= gris; negativo= azul)

- ΔE = Índice del cambio total de color o la variación total del color entre las muestras. Este valor define el tamaño total de la diferencia pero no da información acerca de cómo difiere el color. A mayor valor de ΔE , mayor es la diferencia de color y se calcula según la fórmula siguiente:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Si ΔE es mayor a 1, las variaciones del color son apreciadas por el ojo humano, indicando que son diferentes entre sí a simple vista. Se utilizó como control para el cálculo de ΔE o índice de comparación “estándar”, los valores obtenidos de L^* , a^* y b^* del análisis previo en una muestra comercial.

4.5.3 Perfil sensorial

A través de un panel afectivo a nivel de laboratorio, los parámetros evaluados fueron color, sabor, textura y olor. Las diferentes muestras se presentaron ante un panel afectivo de 30 jueces semi-entrenados conformado por el personal del laboratorio. Se realizó una “*prueba de calificación con escala hedónica verbal*”. El objetivo de la prueba fue identificar el grado de gusto a disgusto frente a los siguientes atributos: aspecto, color, olor, textura, sabor y aceptación global, mediante una escala hedónica verbal como se muestra a continuación:

- 9.- Me gusta extremadamente
- 8.- Me gusta mucho
- 7.- Me gusta moderadamente
- 6.- Me gusta poco
- 5.- Me es indiferente
- 4.- Me disgusta
- 3.- Me disgusta moderadamente
- 2.- Me disgusta mucho
- 1.- Me disgusta extremadamente

Se evaluaron estadísticamente empleando un ANOVA (ANAVAR) de un factor (o vía) mediante el programa de análisis estadístico Minitab 17. La planilla utilizada para la evaluación sensorial de la tableta se puede ver en el **anexo B**.

4.5.4 DISTRIBUCION DE PARTICULAS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Se evaluó la distribución de partículas por microscopia electrónica. Para el análisis de las muestras se colocaron en el porta muestra y sometieron a un baño de oro en una cubierta de vacío iónico Eiko Engineering (20 minutos de vacío y 15 minutos recubrimiento con oro por duplicado). Luego fueron observadas empleando un Microscópico Electrónico de Barrido marca Hitachi Mod. S-500. Fueron observados diferentes campos en búsqueda de aglomeraciones de cristales de azúcar o glóbulos de grasas. Se tomaron microfotografías a diferentes magnificaciones.

4.5.5 DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES

Se determinó el contenido de polifenoles totales a nivel de laboratorio según el procedimiento descrito por [\(Sánchez-Moreno y](#)

col, 1998; Vásquez y col, 2007) en el manual de laboratorio de análisis de alimentos de la Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.

4.5.6 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Se determinó la capacidad antioxidante a nivel de laboratorio según el procedimiento descrito por (Sánchez-Moreno y col, 1998; Vásquez y col, 2007) en el manual de laboratorio de análisis de alimentos de la Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.

4.6 DETERMINACION DEL APOORTE CALÓRICO EN Kcal.

Se determinó el aporte calórico de cada tableta de chocolate según el factor de Atwater, descrito por Stewart, 2014.

4.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

4.7.1 RECUESTO DE MOHOS Y LEVADURAS

Se realizó el método para el recuento de mohos y levaduras para la tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol, siguiendo el procedimiento descrito en la norma Covenin 1337-1990.

4.7.2 AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE SALMONELLA

Se realizó el aislamiento e identificación de Salmonella para la tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol, siguiendo el procedimiento descrito en la norma Covenin 1291-1988.

5. ESTUDIO DE INTERVENCION

5.1 SUJETOS Y DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en 10 sujetos de edades comprendidas entre 20 a 40 años, quienes consumieron durante 21 días, una tableta de 15 g enriquecida con triptófano y resveratrol diariamente.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Investigaciones Endocrinológicas del Hospital Militar Caracas-Venezuela, con la previa aprobación por el comité de Ética del Hospital y en la Escuela de Nutrición y Dietética de la Facultad de Medicina UCV.

Los criterios de exclusión fueron: mujeres embarazadas, lactancia materna, condición clínica significativa (enfermedad renal, hipertensión, cardiovascular, diabetes, alergia o sensibilidad a la prueba de ingredientes del producto, laboratorios clínicos anormales previos, cualquier otra condición que en el investigador pudiese afectar negativamente a la capacidad del participante).

El uso de medicamentos para el tratamiento de cualquiera de las siguientes condiciones: hipertensión, vasodilatación, disfunción eréctil, pérdida de peso, hipercolesterolemia, uso de anticoagulantes y uso de suplementos dietéticos fueron contraindicados para el estudio ya que presentan actividad antioxidante en el organismo.

Los participantes fueron instruidos para comenzar a consumir el chocolate; además los participantes firmaron consentimiento informado para la aceptación del estudio y la toma de muestras, el formato utilizado se puede observar en el **Anexo C**.

5.2 APROBACION DEL COMITÉ DE ETICA.

La aprobación del comité de ETICA del Hospital militar “Dr. Carlos Arvelo” se puede observar en el **anexo D**.

5.3 MEDICIONES DE PESO, CINTURA, CADERA Y PRESIÓN ARTERIAL.

Se tomaron antes y después de 21 días del consumo del chocolate 15 g/día. Se tomó la presión arterial en reposo y sentado. El peso se tomó con balanza TANITA® UM-080 calibrada con sensibilidad de 0,1kg y la talla por medio de un estadiómetro con sensibilidad de 0,1cm. Se tomaron 2 mediciones a cada parámetro y se reportó el promedio.

5.4 CUMPLIMIENTO DE LA DIETA

Los participantes acordaron evitar antioxidantes y alimentos ricos en antocianinas (uvas, vino, chocolate) y triptófano (garbanzo y maní) durante el estudio (**Anexo E**). Se les realizó el registro de consumo de alimentos por frecuencia de consumo, antes y después de finalizar el estudio ([Lares y col., 2012](#)).

5.5 ANÁLISIS DE LABORATORIO

Se tomaron muestras de sangre a los participantes en ayunas a través de punción venosa en tubos de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) antes y después de 21 días de estar consumiendo el chocolate.

Se analizó el suero y plasma para: Glicemia, creatinina, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL., colesterol LDL., colesterol VLDL., ácido úrico e insulina. Los análisis de laboratorio se realizaron por medio los procedimientos establecidos por Biosystems® y fueron realizados por el Centro de Diagnóstico Fundaefilab N.G C.A. Venezuela, exceptuando los análisis de insulina que fueron realizados bajo los lineamientos del laboratorio Olimpo C.A. Venezuela.

- Análisis de la insulino resistencia por HOMA

Para la estimación de la sensibilidad insulínica, por el modelo HOMA, se empleó la siguiente fórmula (Contreras y col, 2008):

$$\text{HOMA-R} = \text{Insulina (mU/ml)} \times \text{glucemia basal (mmol/l)} / 22.5$$

Si una persona tiene un índice Homa mayor a 3, existe una muy elevada posibilidad (> 90%) de tener resistencia a la insulina

- Marcador de estrés oxidativo (8- iso PGF2 α).

Se evaluó el efecto del consumo de chocolate a nivel plasmático por medio del marcador de estrés oxidativo 8- isoprostano (8- iso PGF2 α), la concentración de 8-isoprostano, se determinó mediante el método inmuno enzimático (ELISA) de la casa comercial Cayman Chemical, antes y después del consumo de la tableta durante 21 días.

Metodología:

En primer lugar se procedió a realizar la preparación del pre-ensayo, en la cual se diluyó el buffer EIA colocando el contenido de un vial de buffer de concentración 10X con 90 mL de agua. Para el buffer

de lavado, se tomó 5 mL de este buffer de concentración 400X y se diluyó con agua ultra pura hasta un volumen final de 2 Litros, adicionalmente se le agregó 1 mL poliasorbato 20. El trazador fue reconstituido agregándole al contenido de un vial, 6 mL del buffer EIA previamente diluido. Para la preparación del estándar de 8-isoprostano se tomaron 100 µL de la solución estándar madre y se le agregó 900 µl de agua para obtener una solución stock. Partiendo de esta última solución, se tomaron 8 tubos de ensayo para realizar las diluciones sucesivas. En la **figura 12.** se puede observar el esquema de las diluciones.



Figura 12. Esquema representativo de la preparación de las soluciones estándar de 8- isoprostano. (Fuente: Assay protocol of 8-isoprostane EIA kit).

Posteriormente, se reconstituyó el trazador y el antisuero agregando 100 dtn de cada solución en tubos separados y se les agregó 6 mL del buffer EIA diluido a cada tubo. En la placa de ensayo, los pocillos fueron divididos para obtener 2 blancos (Blk), dos ligados no específicos (NSB), dos ligando máximo (B0) y dos de actividad total (TA). Las columnas 2 y 3 de la placa, fueron destinadas para los estándares previamente preparados, los cuales se colocaron por duplicado. Estos fueron utilizados para generar la curva patrón.

Los resultados se expresaron como pg/mL, en base una curva estándar en concentración de 500; 200; 80; 32; 12,8; 5,1; 2 y 0,8 pg/mL.

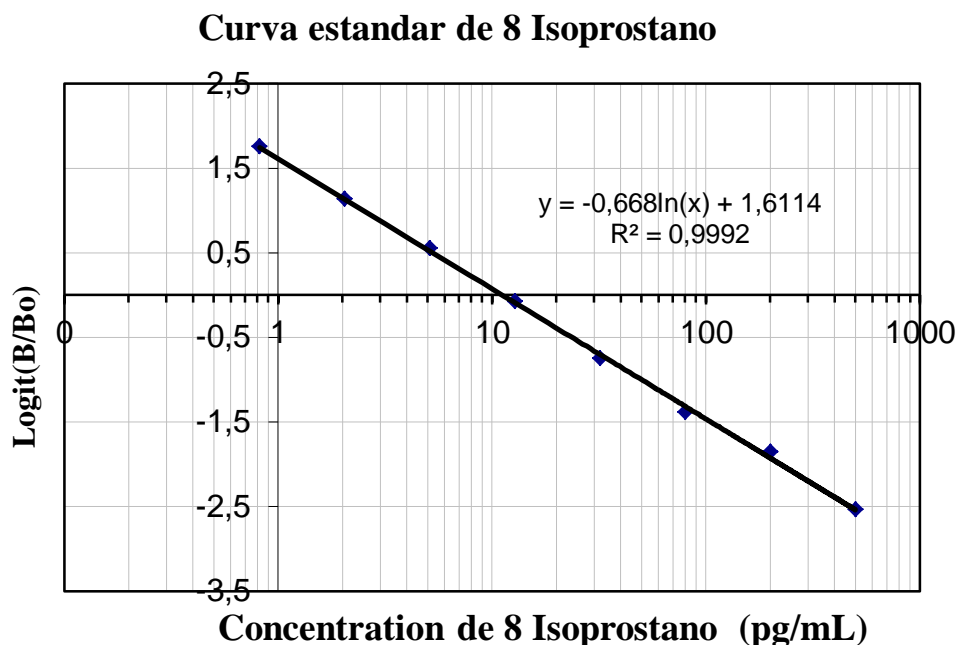


Figura 13. Curva estándar de 8- isoprostano.

Se procedió a agregar los reactivos en el siguiente orden:

- 1 -Buffer EIA: se añadió 100 μ L del buffer EIA a los pocillos del NSB. Posteriormente se le agregó 50 μ l del buffer EIA a los pocillos de B0.
- 2- Estándar EIA de 8-isoprostano: se añadió 50 μ L de la solución estándar del tubo 8 para los pocillos identificados con el mismo número. Este proceso se repitió para cada una de las alícuotas de dilución de los estándares.
- 3- Muestras: se añadió 50 μ L de la muestra en los pocillos identificados (columnas 4-11). Cada muestra se colocó por duplicado.

4- Trazador ACh de 8-isoprostano: Se agregó 50 μL a todos los pocillos, excepto a los de TA y Blk.

1- Antisuero EIA de 8-isoprostano: se agregó 50 μL a cada pocillo, excepto a los pocillos de TA, Blk y NSB.

Posteriormente se cubrió la placa con una película plástica y se incubó por 18 horas a 4 °C. Luego se reconstituyó el reactivo de Ellman agregando el contenido de un vial (100 dtn) en 20 mL de agua ultra pura. Transcurrido el tiempo, se procedió a eliminar el exceso de reactivo de cada pocillo con el buffer de lavado; en donde el proceso de lavado se realizó 5 veces. Se secó la placa y se le añadió 200 μL del reactivo de Ellman.

Se agregó 5 μL del trazador a los pocillos de actividad total. Nuevamente se cubrió la placa con una película plástica y se incubó durante 90-120 min en un cuarto oscuro. Posteriormente, se procedió a realizar la lectura en un lector de placa a una longitud de onda de 405-420 nm.

Se consideró como valores normales para 8-isoprostano, el rango de 40-100 pg/mL (Obregón et al., 2010)

Con el fin de determinar si la intervención mejoró la variable del 8-isoprostano se realizó una comparación no paramétrica a través de la prueba t de Wilcoxon, ya que la muestra (n) es inferior a 30 observaciones y la distribución de los datos no es normal, mediante el programa Minitab 17.

- Marcador de estrés oxidativo enzimático (Catalasa).

Se evaluó el efecto del consumo de chocolate a nivel plasmático por medio del marcador de estrés oxidativo enzimático Catalasa (CAT),

utilizando el método descrito por [Goth, 1991](#). Los datos fueron analizados por el programa estadístico Prism 7 (Graph Pad, San Diego, CA, USA).

5.6 EVALUACION PSICOLOGICA DEL PANELISTA

El Inventario para la Depresión de Beck (Beck Depression Inventory: BDI), en su versión original de 1961 ([Beck y col, 1961](#)) ha sido ampliamente utilizado como medida de sintomatología depresiva en pacientes con trastornos psicológicos y en población normal, hasta constituirse en el instrumento auto aplicado para evaluar la depresión más utilizado en la práctica clínica y en investigación ([Inventory-II, 2003](#)).

Este test mide la severidad de la depresión en adultos y adolescentes mayores de 13 años. Es uno de los cuestionarios más utilizados dentro del campo de la psicología a la hora de medir la severidad de la depresión. El test emplea una herramienta de calificación en la que cada pregunta está calificada en una escala de cuatro puntos que va de 0 a 3.

Se evaluaron los panelistas por medio de este test (**ANEXO F**) a fin de conocer si sufren o no de estados de depresión y en que grado, teniendo en cuenta la siguiente tabla:

Tabla 5. Guía para la interpretación del inventario de la depresión de Beck

Puntuación	Nivel de Depresión*
1 a 10	Estos altibajos son considerados normales.
11 a 16	Leve perturbación del estado de ánimo.
17 a 20	Estados de depresión intermitentes.
21 a 30	Depresión moderada.
31 a 40	Depresión grave.
+4 0	Depresión extrema.

* Una puntuación persistente de 17 o más indica que puede necesitar ayuda profesional.

6. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico se realizó con el programa Minitab 17, los datos se muestran por el promedio y desviación estándar, del mismo modo realizará la prueba estadística no paramétrica Kruskal- Wallis o Wilcoxon para $n=10$ y ANOVA un factor (o vía) para $n=30$.

RESULTADOS

7. RESULTADOS

7.1 PROCESO Y RENDIMIENTO DE MATERIAS PRIMAS

El rendimiento de la harina de piel, semilla de uva y el de la pasta de maní obtenida fue evaluado, observándose que el maní no presenta un porcentaje de pérdidas significativo (Figura 6). Por su parte la mezcla de piel y semilla de la uva (MPS) registro un porcentaje de pérdidas relativamente alto debido a la gran cantidad de agua que contiene, reportándose un rendimiento del 23.8%. Sin embargo, esta materia prima que es un subproducto que se descarta en la industria vinícola, proporciona un valor agregado a la uva.

Como se puede observar en la **Tabla 6** se obtuvo finalmente 2 Kg de materia seca a partir de 8,4 Kg de MPS fresca (Figura 5) con la cual por molienda y tamizado se logró obtener 1,2 Kg de harina de uva con 60 *mesh*, 0.5 Kg con 80 *mesh* y 0.3 Kg con 120 *mesh* de finura. Se debe tener en cuenta que para la formulación de la tableta final se tomaron tamaños de partícula entre 80 y 120 *mesh*, ya que si bien esta granulometría (177 μm y 125 μm) no se aproximaba a la finura recomendada por (Beckett, 2008) para el chocolate (30 micras), los resultados de la evaluación sensorial (**numeral 7.3**) revelan aceptación por la sensación residual que deja el tamaño de partícula del chocolate evaluado en boca.

Tabla 6. Resultados del rendimiento mezcla de piel y semilla de la uva (MPS).

MPS	CARACTER	Peso (Kg)
°T Secado: 35 – 39°C t real de secado: 15h % Humedad inicial: 76.10%	Peso inicial	8,4
	Peso Final	2
	Peso piel	1,3
	Peso Semillas	0,7
	Peso total obtenido	2
	<i>RENDIMIENTO: 23.8%</i>	

Salinas des Chanalet (2013), demostró que la temperatura de 60°C no afecta la capacidad antioxidante de la piel y la semilla de uva tinta, y afirma que a 40°C el proceso es poco eficiente debido al tiempo utilizado para el proceso de secado.

En este estudio se evidenció que usando temperaturas entre 35-39°C, se obtuvo una harina de uva con características tolerables para ser usada en la formulación; el tiempo de proceso es extenso, debido al tipo de secador usado; por lo tanto para efectos de la industrialización de esta materia prima se recomienda el uso de un deshidratador más eficiente.

7.2 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE LA MATERIA PRIMA

En la **Tabla 7**, se observan los resultados obtenidos luego del análisis proximal y físico de las materias primas que enriquecen la tableta de chocolate.

Tabla 7. Determinación de a_w y caracterización proximal de las materias primas (MP).

MP	ANALISIS					
	a_w	Humedad %	Proteína %	Grasa %	CHOs T* %	Cenizas %
MPS	0,22 ± 0,08	1,93 ± 0,06	--	--	-	10,33 ± 1,85
Maní (Arachis hypogaea L.)	0,31 ± 0,08	1,65 ± 0,06	33,55 ± 3,43	48,55 ± 0,42	8,81 ± 0,01	7,44 ± 1,04

*CHOs T: Carbohidratos totales por diferencia. Cada valor es el promedio de $n=3 \pm$ la desviación estándar.

El agua disponible para el crecimiento microbiano en el polvo de uva y el maní es de 0.22 y 0.31 respectivamente, estos valores son ampliamente bajos considerando que la menor actividad de agua en la cual una bacteria patógena crece es de 0.85 (Vidal y col., 1991), los mejores valores de actividad de agua para el crecimiento bacteriano están entre el 0.97 y 0.99, de modo que los alimentos con A_w dentro de este rango serán potencialmente más peligrosos a este crecimiento.

El contenido de humedad del maní fue de 1.65%, esto coincide aproximadamente con lo indicado por Ciappini y col., (2008) donde el contenido de humedad de las muestras de maní analizadas se encuentra entre el 1.98 y 2.74%. Salinas des Chanalet (2013), determinó el contenido de humedad del Bagazo de Uva a 40°C (temperatura de secado) por un tiempo de 10 horas, los resultados obtenidos revelaron muestras con un %humedad menor al 8%, en el mismo estudio se analizó el contenido de cenizas del Bagazo de uva tinta, el cual obtuvo un 14.1%, valor que difiere del obtenido en este estudio en menos de un 4%.

Según [Jiménez \(2014\)](#), el contenido de proteína y lípidos en la almendra del maní corresponde a 28.5 y 46.3%, lo que coincide aproximadamente con los resultados obtenidos de proteína (33.55%) y lípidos (48.5%) de la materia prima utilizada. Por su parte [Shokunbi, 2012](#) determinó los contenidos del maní en 5 variedades diferentes resultados que producían alrededor de un 24,26 – 26,4% de proteína y 45,41 – 48,14% de materia grasa este último no se aleja mucho del resultado obtenido.

Los resultados obtenidos en cuanto a cantidad de carbohidratos totales en maní, coinciden con la tabla de composición de los alimentos ([Abreu, 2012](#)), en donde se muestra que los carbohidratos (g) disponibles para un maní tostado sin película es de 8,5%, valor relativamente muy cercano a los obtenidos (8,81).

Según ([Shokunbi, 2012](#)) el maní tiene entre un 2,77 a 3,31% de cenizas, esto depende mucho de la variedad del maní, clima y suelo, por lo que los resultados varían respecto a los obtenidos en este trabajo; el maní analizado y utilizado para enriquecer el chocolate presento un 7.44% de cenizas, mientras que el polvo de uva un 10,33%. La cantidad de triptófano y resveratrol en las materias primas utilizadas para el desarrollo de la tableta, se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Contenido reportados de Resveratrol y triptófano en materias primas.

MP	Resveratrol (mg/g)	Autor	Triptófano % en base a Proteína total en base seca	Autor
Maní	0,2 – 1,8	Sanders y col., 2000	1,03	Comai y col, 2007a
Piel Uva tinta	0,6 – 0,75	Counet y col., 2006	--	--
Chocolate Oscuro	0.35 +/- 0.8	Hurts y col., 2008	1,63	Bertazzo y col, 2011

Bibliográficamente se comprobó que la piel de uva tinta posee mayor contenido de resveratrol, seguido por el maní, del mismo modo se puede observar que el licor de cacao no es fuente representativa de Resveratrol, sin embargo este mismo muestra un contenido significativo de triptófano al igual que el maní, en comparación con otro tipo de materias primas como el café arábica (Martins y col., 2010) con 1.02%, las lentejas con 0.8% y los guisantes 0.9% (Comai y col., 2007a).

7.3 FORMULACION DEL CHOCOLATE

El proceso de elaboración del chocolate se describe en la figura 7, en la cual se observan los ingredientes utilizados para la elaboración del chocolate, basado sobre una formula comercial de licor de cacao al 70 % , harina de MPS y pasta de maní,. No se incluyó ningún aditivo químico en la formulación con el fin de asignar un carácter orgánico al chocolate.

Con las materias primas analizadas, se desarrollaron dos formulaciones diferentes codificadas aleatoriamente como: 501 (harina de uva a 120 mesh) y 483 (harina de uva a 80 mesh) siguiendo las instrucciones indicadas en la metodología. Usando el

ensayo preferencial de escala hedónica de seleccionó la formulación óptima. En la **Tabla 9.** se muestran los resultados estadísticos obtenidos en la evaluación sensorial.

Tabla 9. Resultados estadísticos de la evaluación sensorial.

Atributo	Media aritmética* (\bar{X})		Nivel de significancia (P= 0.05)
	501	483	
Aspecto	7,80 ± 0,71	7,46 ± 1,10	0,171
Color	7,80 ± 0,96	7,60 ± 1,03	0,442
Olor	7,60 ± 0,93	7,43 ± 0,97	0,500
Textura	6,83 ± 1,31	6,60 ± 1,49	0,524
Sabor	6,76 ± 1,40	6,86 ± 1,13	0,763
Aceptación global	6,966 ± 1,12	6,73 ± 1,20	0,441

Cada valor es el promedio ± desviación estándar, n=30. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente con ANOVA por comparación múltiple con un nivel de significancia (P) del 5%. Media aritmética (\bar{X})

Los resultados de la evaluación sensorial, señalan que no existen diferencias significativas entre las formulaciones en cuanto a los atributos evaluados. Siendo cada uno de los niveles de significancia obtenidos mayores a la α (0.05), la hipótesis nula (Ho: No existe diferencia significativa entre las muestras) no puede ser rechazada por lo tanto la hipótesis alternativa (H1: Si existen diferencias significativas entre las muestras) es rechazada y aceptamos Ho. La media aritmética entre las muestras demuestra que ninguno de los atributos se aleja ampliamente entre sí, cada uno de los atributos evaluados se mantuvo en el mismo orden numérico, por lo tanto se elaboraron las tabletas enriquecidas con triptófano y resveratrol con tamaños de partículas de la harina de uva entre 80 y 120 Mesh.

Dentro de las observaciones de los jueces tenemos que las tabletas evaluadas presentan aromas florales y a madera; del mismo modo las mismas tienen un sabor amargo agradable y la sensación residual en boca (referidas al tamaño de partícula) le gustó a todos los panelistas, por tanto no se decidió modificar en sí este atributo.

7.4 COMPOSICION PROXIMAL DE LA TABLETA ENRIQUECIDA CON TRIPTOFANO Y RESVERATROL

En la **Tabla 10**, se muestra la composición proximal de la tableta elaborada. Los resultados señalan un bajo contenido de humedad, así como también una baja actividad de agua, lo cual no permite un desarrollo microbiano. El *Codex Alimentarius* señala que una actividad de agua (a_w) superior a 0.70 a 25°C (77°F) es peligrosa (CAC/RCP 22-1979). La actividad de agua reportada para el chocolate enriquecido elaborado en este estudio, lo sitúa en la clasificación de alimentos de baja humedad no perecedera.

Tabla 10. Composición proximal. Tableta de Chocolate enriquecida (TCE) con triptófano (TRP) y resveratrol (RSV).

TABLETA ENRIQUECIDA TRP Y RSV	ANALISIS				
	a_w	Humedad %	Proteína %	Grasa %	CHOs T* %
	0,33	1,39	23,59	52,09	22,93
	± 0,06	± 0,01	± 1,22	± 0,70	

*CHOs T: Carbohidratos totales por diferencia. Cada valor es el promedio de n=3 ± la desviación estándar.

El contenido de humedad (1,39%) corrobora los resultados obtenidos con la a_w (0,33), lo que indica una vida estable de almacenamiento de este producto. El porcentaje de humedad

obtenido (1,39) es cercano al obtenido por [Fernández y col, 2014](#) para chocolate oscuro (70%) Venezolano.

El cacao es una fuente importante de proteína, grasa y fibra ([Perea y col, 2011](#)); adicionalmente las materias primas como el maní contienen altos contenidos proteico – grasos por lo que no es sorprendente observar unos contenidos de proteína y grasa altos en la tableta formulada.

[Lares y col \(2012\)](#), determinaron el porcentaje de proteína y grasa en granos fermentados, secados al sol y tostados, el contenido de proteína de los mismos estaba alrededor del 12% mientras el contenido de grasa a 45% aproximadamente.

El *Codex Alimentarius* establece en la norma para el chocolate y los productos del chocolate ([Codex Stan 87-1991](#)) que el chocolate debe tener por lo menos un 18% de manteca de cacao, el chocolate formulado contiene más del doble del porcentaje de manteca de cacao mínima requerida por el Codex. Los resultados en cuanto al porcentaje de grasa obtenido (52,09%), son similares con los obtenidos por [Cala y col, 2008](#), en el cual se obtuvo un 56,21% de grasa por el método de Soxhlet. Debido al alto contenido graso que presento la tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol se determinó el perfil de ácidos grasos de la misma **(Tabla 11)**.

Según [Vinson y col, 1999](#), la materia grasa del chocolate es la manteca de cacao, la que contiene un 35% de ácido oleico, un 35% de ácido esteárico, y un 25% de ácido palmítico. El 5% restante está formado por diversos ácidos grasos (saturados e insaturados) de distinta longitud de cadena, cuya composición es típica de las diferentes almendras de cacao. La grasa del cacao es además rica en ácido linoleico, un ácido graso esencial, además de cantidades apreciables de polifenoles especialmente de flavonoides, sustancias

con alto potencial antioxidante (Wollgast y col., 2000; Dreosty, 2000; Miller y col., 2006).

Tabla 11. Perfil de ácidos grasos en tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol.

Nº	Nombre	Clasificación	*Ácido graso	Contenido de ácidos grasos (%)
1	Ácido mirístico	Saturado	C14:0	0,034
2	Acidopentadecanoico	Saturado	C15:0	0,008
3	Acido palmítico	Saturado	C16:0	26,202
4	Ácido palmitoleico	Insaturado	C16:1 (cis-9)	0,111
5	Acido margárico	Saturado	C17:0	0,109
6	Acido esteárico	Saturado	C18:0	29,630
7	Acidoeláidico	Insaturado	C18:1 (trans-9)	0,023
8	Ácido oleico	Insaturado	C18:1 (cis-9)	37,957
9	Ácido Linoleico	Insaturado	C18:2 (cis-9,12)	4,654
10	Ácido araquídico	Saturado	C20:0	0,792
11	Ácido Linolénico	Insaturado	C18:3 (cis-9,12,15)	0,003
12	Ácido behénico	Saturado	C22:0	0,302
13	Ácido erúcido	Insaturado	C22:1 (cis-13)	0,003
14	Acidotricosanoico	Saturado	C23:0	0,006
15	Acidolignocérico	Saturado	C24:0	0,039
16	Ácido eicosapentaenoico	Insaturado	C20:5 (cis-5,8,11,14,17)	0,082
17	Saturado	--	--	57,122
18	Insaturados	--	--	42,833
19	Relación saturado/insaturado	--	--	1,3:1

*Ácidos Grasos detectados y su % (p/p) en la muestra.

Un ejemplo de grasa vegetal es la manteca de cacao compuesta de una mezcla triglicéridos saturados, mono-insaturados y poli-insaturados. Los triglicéridos mono-insaturados constituyen el componente mayor debido a que supone un 80% del contenido graso total de la manteca. Sin embargo, Salinas y Bolívar en el 2012 detectaron 25 AG diferentes, con alta variabilidad en el contenido de los saturados, mono insaturados y poliinsaturados en tabletas, bombones y untables de chocolate venezolanos.

En este estudio se corrobora la relación señalada en la literatura ([Salinas y Bolívar, 2012](#)) en cuanto a la presencia en mayor concentración de ácidos grasos saturados en chocolates venezolanos; reportándose un valor de 1,3:1 (saturado: insaturado) en la tableta de chocolate elaborada.

La mayor cantidad de ácidos grasos presentes en la manteca de cacao son sólidos a temperatura ambiente, como bien lo demuestra la naturaleza física de la manteca de cacao y en menor proporción la del maní. La manteca de cacao contiene antioxidantes naturales que previenen rancidez, otorgándole una vida de almacenaje de dos a cinco años.

Es ampliamente conocido el comportamiento específico que tienen los diferentes tipos de ácidos grasos en relación a la modificación del colesterol en el plasma sanguíneo y la importancia que tiene este parámetro en relación al riesgo de morbilidad y mortalidad por enfermedades cardiovasculares como aterosclerosis, trombosis e infarto de miocardio ([Mensink, 2005](#)).

Los triglicéridos por ejemplo, contienen alta proporción de ácidos grasos saturados, y entre sus atributos está el de contribuir a la acumulación de colesterol en la sangre. Sin embargo Según [Marcano \(2010\)](#), no todas las grasas saturadas son dañinas, en aquellas de algunos vegetales como en el aceite de coco, de nuez y de palma, especialmente en la leche hay una alta proporción de triglicéridos de cadena mediana que son beneficiosas para la salud.

Los ácidos grasos saturados tales como laúrico, mirístico y palmítico aumentan ambos tipos de colesterol el LDL y el HDL. Por otra parte, los insaturados tales como el oleico o el linoleico producen una disminución del colesterol LDL, mientras que tiene un efecto neutro

no de incremento del HDL dependiendo esto último de otros factores como la relación entre ácidos grasos saturados e insaturados y relación entre los diferentes tipos de insaturados ([Gonzalez, 2015](#)).

El porcentaje graso más alto presente en las tabletas de chocolate proviene de grasas saturadas (ácido palmítico y esteárico) con un 26,202 y 29,630%(p/p); sin embargo, según [Gonzalez, 2015](#), el ácido esteárico que presenta un comportamiento totalmente diferente a los demás saturados: tiene un efecto neutro sobre ambos tipos de colesterol (o ligeramente depresor del LDL), por un lado no aumenta la concentración del colesterol LDL, además se transforma muy rápidamente en el hígado a ácido oleico, y por último posee una incorporación preferencial en lípidos polares, en lugar de ser en colesterol o triglicéridos.

El ácido esteárico está considerado por la Organización Mundial de la Salud como la única grasa saturada que no afecta los niveles de colesterol en el torrente sanguíneo y que reúne las condiciones físicas para su uso en la fabricación industrial de productos como margarinas, chocolates, bollería y precocinados, entre otros.

A pesar de ser un líquido a temperatura ambiente las fracciones por cristalización en seco o con solventes son sólidas a esta temperatura. Las fracciones sólidas que se obtienen (estearinas) han mostrado gran potencial para reemplazar hidrogenados vegetales en chocolate o productos de panadería ([Bootello y col, 2001](#); [Salas y col, 2011](#); [Rincón-Cárdona y col, 2013](#)), ello presenta una enorme implicancia desde el punto de vista de la producción de alimentos, ya que existen una gran cantidad de aplicaciones donde resulta necesario contar con grasas sólidas. Sólo aquellas basadas principalmente en ácido esteárico tendrían un efecto neutro desde el punto de vista del colesterol y de la salud cardiovascular. El resto de los saturados y las grasas *trans* incrementan el riesgo significativamente ([Sinclair y col, 2001](#)).

Según [Yu y col, 1995](#); el ácido palmítico aumenta los niveles de colesterol plasmático, del mismo modo, una reciente revisión acerca del ácido palmítico, publicada en la revista “The Journal of Nutrition” ([Sun y col, 2015](#)), corrobora que en humanos el aceite de palma (cuyo principal componente es el ácido palmítico) aumenta el LDL colesterol, el “colesterol malo” más que los aceites vegetales bajos en grasas saturadas. Por el contrario, disminuye el HDL colesterol, “colesterol bueno”, más que las propias grasas *trans*; según [Ros, 2015](#), la ingesta de ácidos grasos saturados aumenta significativamente el colesterol total, el colesterol LDL y moderadamente el colesterol HDL; la misma afirma que la sustitución de ácidos grasos saturados por ácidos grasos poliinsaturados o ácidos grasos monoinsaturados disminuye el colesterol total y el LDL.

El ácido oleico (ácido insaturado) también hace presencia en grandes cantidades en la tableta con un 37, 957%(p/p). Los ácidos grasos omega-9 (ω -9) son un tipo de ácido graso monoinsaturado encontrados en algunos alimentos. Algunos estudios sugieren que estos ácidos grasos son beneficiosos para prevenir y combatir el cáncer de mama ([Pala y col, 2001](#)), dos importantes ácidos grasos ω -9, son el ácido oleico (18:1 ω -9) que es el componente principal del aceite de oliva y de otras grasas monoinsaturadas y ácido erúxico (C22:1 (cis-13)), ambos presentes en el chocolate, sin embargo es muy importante resaltar que el ácido oleico es el ácido que se presenta en mayor cantidad (37.957%(p/p)) en la tableta de chocolate.

[Chaiseri et al. \(1989\)](#); [Chaiseri y Dimick \(1989\)](#); [Sotelo et al. \(1990\)](#) y [Carpenter et al. \(1994\)](#) han observado que los principales ácidos constituyentes de la manteca de cacao son el ácido palmítico, esteárico y oleico, además de pequeñas proporciones de ácido linoléico y linolénico. Según [Pérez \(2002\)](#), los triglicéridos de la

manteca de cacao son una combinación de ácidos grasos saturados (AGS) (palmítico y esteárico) y de ácidos grasos insaturados (AGI) (oleico y linoléico) los cuales se encuentran en niveles significativos.

[Marcano, 2010](#); sostiene que en los animales incluyendo al hombre, las proteínas y los azúcares ingeridos son transformados en ácidos grasos y su exceso se almacena en forma de triglicéridos, constituyentes principales de la grasa corporal. No todos los ácidos grasos son indispensables para promover los mecanismos de crecimiento y defensa del organismo, y aquellos que cumplen esa función son conocidos como ácidos grasos esenciales y son los ácidos grasos con más de un doble enlace o poli-insaturados, como el linoleico (Omega/ ω -3) y linolénico (Omega/ ω -6) presente en la tableta desarrollada (4.654% y 0.003% respectivamente). El funcionamiento celular depende de la ingesta equilibrada de estos dos grupos; estos ácidos no son sintetizados por el organismo, por lo cual deben incorporarse a través de la dieta. Otros ácidos omega/ ω -3 son el Ácido eicosapentaenoico (EPA) también presente en bajas cantidades (0.082%(p/p)) en la tableta de chocolate.

A la grasa insaturada omega/ ω -3 y ω -6 se le atribuye efecto protector del sistema circulatorio, ya que los mismos son precursores de prostaglandinas en el organismo, estas tienen efectos vasodilatadores, lo que provoca un aumento en el flujo sanguíneo y retarda el depósito de grasas en las arterias.

7.5 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

El ensayo antioxidante DPPH se basa en la capacidad del 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH), un radical libre estable, para decolorarse en presencia de barridos de radicales libres (antioxidantes). El electrón impar del radical de DPPH es

responsable de la absorbancia a 517 nm y también del color púrpura oscuro visible. Cuando DPPH acepta un electrón donado por un compuesto antioxidante, el DPPH se decolora y puede medirse cuantitativamente por los cambios en la absorbancia (Chitnis y col, 2007). En la **Tabla 12.** se observan los resultados obtenidos respecto al contenido de polifenoles totales y concentración efectiva media sobre el radical DPPH.

En estudios *in vivo* se ha observado que los polifenoles ejercen efectos antiateroscleróticos en los estadios tempranos del desarrollo de esta enfermedad disminuyendo, por ejemplo, la oxidación de las LDL; mejoran la función endotelial y aumentan la producción y liberación de óxido nítrico (potente vasodilatador); modulan la inflamación y metabolismo lipídico (efecto hipolipidémico); mejoran el estado antioxidante; y protegen frente a episodios aterotrombóticos que incluyen isquemia miocárdica y agregación plaquetaria (Badimon, et al., 2010).

Tabla 12. Contenido de Polifenoles totales extraíbles, expresados como mg de ácido gálico, y concentración efectiva media de EC₅₀ sobre el radical DPPH.

Muestra	Polifenoles totales* (mg EAG/ 100 g muestra)	DPPH**
		EC ₅₀ (g/gDPPH)
TABLETA DE CHOCOLATE FINAL	1387,39 ± 145,36 mg AG/100 g ± 0.01	36,25 ± 0.04 mg/ml

*Cada valor es el promedio ± desviación estándar, n=6. **Cada valor es el promedio ± desviación estándar, n=2. GA: Acido Gálico. EC50: Concentración del extracto de la muestra que «secuestra» el 50% del radical libre DPPH. Estos resultados son expresados en base humedad (1,39%).

Las propiedades antioxidantes del chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol se asocian específicamente al contenido de polifenoles del cacao y a los compuestos antioxidantes que presentan las materias primas utilizadas (maní, polvo de uva y chocolate), el contenido en polifenoles de la tableta formulada (1387,39 mg EAG/100 g), fueron inferiores a los reportado por [Padilla y col, 2008](#), en cacao (6600 mg EAG/ 100 g) y Mamón (*M. bijugatus*) (2940 mg EAG/ 100 g) y a lo alcanzado por [Fernández y col, 2014](#), para chocolate oscuro 70% (15230,04 mg EAG /100 g), sin embargo la tableta de chocolate formulada contiene una cantidad de polifenoles totales mayor a lo obtenido por [Imeh y col, 2002](#), respecto a la manzana (367,3 – 535,0 mg EAG/ 100g), la pera (302,3 – 458,2 mg EAG/ 100g) y el kiwi (302,8 mg EAG/ 100g) y a lo alcanzado por [Kuskoski et al., 2005](#), para mora (118,9 mg EAG/ 100g), Uva (117,1 mg EAG/ 100g) y fresa (132,1 mg EAG/ 100g) - citado por ([Fernández y col, 2014](#)).

[Jayaprakasha y col, 2001](#), asegura que la diferencia en la estructura química de cada uno de los polifenoles presentes en diferentes muestras los puede hacer reaccionar como donadores de electrones o no, característica que va a influir en el poder reductor.

Los resultados de polifenoles totales obtenidos (1387,39 mg EAG/100 g) son menores a los alcanzados por [Nazario, y col, 2014](#), en granos de cacao criollo secos y siete clones (3338 – 5721 mg EAG/ 100 g), y mayores a los conseguidos por [Vázquez-Ovando y col, 2014](#), para granos de cacao provenientes del sur de México, (670 – 685 mg EAG / 100 g); según [Miller y col, 2006](#); la cantidad de polifenoles y la actividad antioxidante parecen depender del contenido de sólidos no grasos presentes en los productos finales.

La cantidad de polifenoles presentes en la tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol (1387,39 mg EAG/100 g) es comparables con los conseguidos por ([FernándezPachon y col,](#)

2004; Paixao et al., 2007; Li et al., 2009) para un rango promedio de (1389-2068 mg EAG /L) en vinos tintos - citado por (Fernández y col, 2014).

Existe una correlación directa entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante, pero estas variables se ven afectadas por el proceso de transformación del grano, especialmente durante la etapa de tostado, en la que se presenta una pérdida de polifenoles y de actividad antioxidante alrededor del 23% con respecto a la materia prima sin tratar (Perea-Villamil y col, 2009), esta teoría es comprobada por Rivera y Gómez, 2013; quienes determinaron la cantidad de polifenoles totales en granos de cacao ($6,394 \pm 0,095$ g EAG/100 g) y en granos tostados y molidos ($4,036 \pm 0,105$ g EAG/100 g), sin embargo en este mismo estudio se pudo evidenciar la cantidad de polifenoles presentes en el licor de cacao aumentan ($5,689 \pm 0,153$ g EAG/100 g de muestra); considerando que el cacao es 100% chocolate, la tableta formulada (70%) presenta un valor mucho más bajo de polifenoles totales en comparación con un chocolate 100%.

Alean y col, 2016, afirman que la degradación de los polifenoles dependen de la temperatura, humedad y tiempo de secado del fruto seco, tras comprobar que la mas alta degradación de polifenoles en cacao se produjo a 60°C, y la menos a 40°C, estos factores afectan irreversiblemente el proceso oxidativo de los polifenoles y pueden ser afectados también por la destrucción celular; a pesar de que Salinas des Chanalet (2013), demostró que no existe diferencia significativa en la cantidad de polifenoles totales a 40°C (36,5 mg/g) y 60°C (42,4 mg/g) para el bagazo de uva tinta, así pues, el contenido de polifenoles presentes en el chocolate formulado en este estudio pudo variar debido a las temperaturas de secado y/o tostado del chocolate (70%) utilizado como una de las materias

primas primordiales para la formulación del mismo; por otro lado; el contenido de polifenoles presentes en la harina de uva pudieron disminuir a causa de la migración de los mismo durante el proceso de producción del vino tinto. [Adamson y col, 1999](#), indican que las diferencias en la composición y cantidad de polifenoles, puede explicarse por las diferencias en los métodos de manufactura que pueden causar alteraciones químicas en el contenido de antioxidantes.

Los efectos beneficiosos derivados del consumo de polifenoles parecen estar mediados por una serie de rutas bioquímicas y mecanismos de señalización que pueden actuar independiente o sinérgicamente ([Badimon, et al., 2010](#)), al igual que puede ocurrir bioquímicamente sinergia o antagonismo (en este caso antagonismo) entre los ingredientes utilizados para la formulación y así, disminuir su capacidad antioxidante.

Para la tableta formulada, la concentración efectiva media EC_{50} fue de 36,25 g/g DPPH; valor significativamente alto en comparación con los obtenidos por [Padilla y col, 2008](#), con respecto a cacao (5,69 g/gDPPH), semilla de mamón (*M. bijugatus*) (5,69 g/gDPPH) y sorgo (12,44 g/gDPPH). La concentración de antioxidante necesaria para disminuir en un 50% la concentración inicial del sustrato (EC_{50}) es un parámetro ampliamente usado para medir el poder antioxidante. Mientras más bajo es el valor de EC_{50} , más alta es la actividad antioxidante ([Sánchez-Moreno y otros 1998](#)), por lo que se considera que el valor obtenido se correlaciona bien con el contenido de polifenoles al considerar la tableta enriquecida con triptofano y resveratrol presenta una actividad antioxidante baja en relación a los estudios relacionados con cacao aquí mencionados. [Kris-Etherton y Keen, 2002](#), afirma que los productos de cacao y chocolate tienen un contenido variable en flavonoides, desde algunos que casi no los contienen, a otros de alto contenido, por lo que para lograr un efecto

antioxidante inmediato en humanos se requieren al menos 38 g de chocolate rico en flavonoides, y hasta 125 g para un efecto prolongado.

7.6 PERFIL DE COLOR DE LA TABLETA ENRIQUECIDA

Los resultados del perfil de color se ven reflejados en la **Tabla 13**, en la misma se puede observar que la tableta enriquecida es mucho más luminosa que la muestra control (chocolate comercial 70%).

Del mismo modo los valores de a y b (ambos positivos) son mayores en la muestra de tableta enriquecida con triptófano y resveratrol analizada, esto indicaría mayor concentraciones de colores rojizos en la tableta formulada, probablemente por el contenido en harina de uva de la tableta, así mismo, los colores amarillos se intensifican en la misma, esto también puede ser consecuencia de los ingredientes utilizados para la formulación, en este caso el maní.

Tabla 13. Perfil de color: Tableta de Chocolate enriquecida con TRP y RSV.

Formulación	L*	a*	b*	*IM	ΔE
TAB (TRP + RSV)	33,13±0,01	9,18±0,02	13,47±0,17	66,87±0.24	36,92
Muestra comercial Chocolate (70%)	29,11±0,01	6,42±0,02	8,47±0,17	70,89±0.36	30,98

*Los resultados obtenidos son producto de análisis realizados por triplicado (n=3) ± desviación estándar. *IM: Índice de Marrón.

Los resultados de ΔE expresan que las variaciones del color son apreciadas por el ojo humano, indicando que son diferentes entre sí a simple vista. La textura y la apariencia del chocolate son indispensables para la elección y aceptabilidad del consumidor, aunque el sabor es frecuentemente considerado importante en la identificación del producto (Beckett, 2003, Whitefield, 2005).

El índice de marrón entre las muestras es mayor en la muestra comercial, cabe destacar que los ingredientes utilizados para el desarrollo de la tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol provocan la disminución de la intensidad de color marrón, proveniente del cacao.

7.7 PERFIL DE TEXTURA

Se analizaron por triplicado 2 muestras del chocolate formulado (TAB_2 y TAB_3), y se compararon con una muestra comercial 70% (TAB_4) la siguiente grafica muestra que hubo un comportamiento similar en las muestras, la fuerza comienza a aumentar a medida que el embolo circular penetra la superficie del chocolate. En la **Figura 14**, se observa el perfil de textura obtenido.

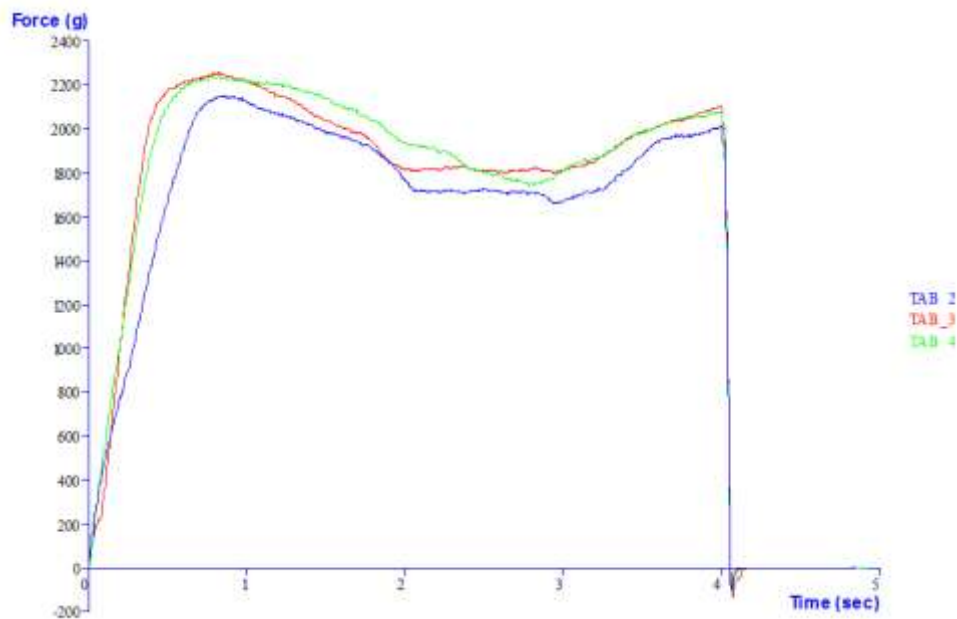


Figura 14. Perfil de textura para: Chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol (TAB_2 y TAB_3) y muestra control (TAB_4).

La fuerza media de esta meseta puede tomarse como la dureza y el área total bajo el gráfico como el trabajo de penetración. El límite de elasticidad es el punto en el que comienza la gráfica y el flujo plástico del material.

En la misma grafica se pueden observar unos leves picos en el plano negativo (-Y / Fuerza) que sobresalen mínimamente, lo que indica baja adhesividad de las muestras, siendo la muestra TAB_3 mas adhesiva que la control. Sin embargo se puede concluir que no hay diferencia entre ambos tipos de chocolate en cuanto a textura.

La tableta enriquecida con triptófano y resveratrol presenta una textura similar a la textura de un chocolate comercial de buena calidad.

7.8 MICRO ESTRUCTURA DEL CHOCOLATE

Afoakwa et al., 2007a y Beckett, 2000 afirman que durante la fabricación, el refinado y el conchado determinan el tamaño de partícula, viscosidad y consistencia para cualidades específicas de textura y sensoriales, así mismo Afoakwa et al., 2007b sostiene que la calidad reológica del chocolate oscuro depende de la distribución del tamaño de partícula sólida así como de la composición en fase continua, en la siguiente figura se puede observar la distribución de las partículas en la tableta formulada, a diferentes magnificaciones.

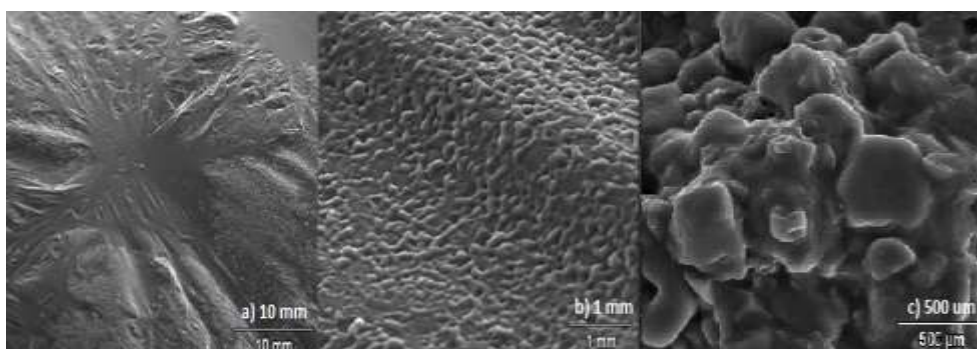


Figura 15. Distribución de partículas en tableta chocolate (Magnificaciones: a) 10 mm; b) 1 mm; c) 500 μm).

La figura 15, representa la distribución del tamaño de partícula en la muestra. En las diversas magnificaciones utilizadas se observa homogeneidad en la muestra, específicamente en (b) donde se observa un tamaño de partícula muy uniforme. El proceso de producción del chocolate (70%) aseguró dicha homogeneidad, debido a que los equipos utilizados durante la fabricación de la tableta, fueron los más adecuados, lo cual puede corroborarse en las imágenes.

Beckett, 2008, afirma que si hay un número significativo de partículas mayores de 30 micras (0,03 mm) el chocolate se siente arenoso en la lengua. Es preciso tener en cuenta que el chocolate elaborado en este estudio los tamaños de partícula; tanto del polvo

de uva, como del maní fueron perceptibles en boca ($\geq 30 \mu\text{m}$). La imagen C muestra partículas en un rango de $500 \mu\text{m}$ en la tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol que corroboran la sensación residual agradable señalada por los jueces en la evaluación sensorial

La distribución y composición del tamaño de partícula influyen en la reología del chocolate (Beckett, 2000, Servais y otros, 2002, Sokmen y Gunes, 2006; Afoakwa et al., 2007b), pero sus efectos sobre la textura y el aspecto siguen siendo poco claros, adquirir información impactaría la mejora de los procesos y desarrollo de nuevos productos en la fabricación de chocolate (Afoakwa et al., 2008).

7.9 EVALUACION SENSORIAL

En la **Tabla 14.** se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de la tableta enriquecida con triptófano y resveratrol.

Tabla 14. Evaluación sensorial tableta final.

Atributo	Media aritmética* (\bar{x})
Aspecto	7,80 \pm 0,610
Color	7,86 \pm 0,730
Olor	7,66 \pm 0,758
Textura	7,13 \pm 0,860
Sabor	7,10 \pm 0,99
Aceptación global	7,23 \pm 1,222

*Cada valor es el promedio \pm desviación estándar, n=30. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente con ANOVA por comparación múltiple con un nivel de significancia (P) del 5%.

El perfil sensorial de la tableta formulada enriquecida con triptófano y resveratrol, se muestran en la **Figura 15**, en donde se puede

observar que la aceptación global de la misma obtuvo en general un puntaje de siete puntos correspondiente a: “Me gusta moderadamente”.

La mayoría de los jueces afirmo que las tabletas de chocolate evaluadas le dejaban una sensación residual agradable, a ello se referían al tamaño de partícula que quedaba en boca luego del consumo del chocolate.

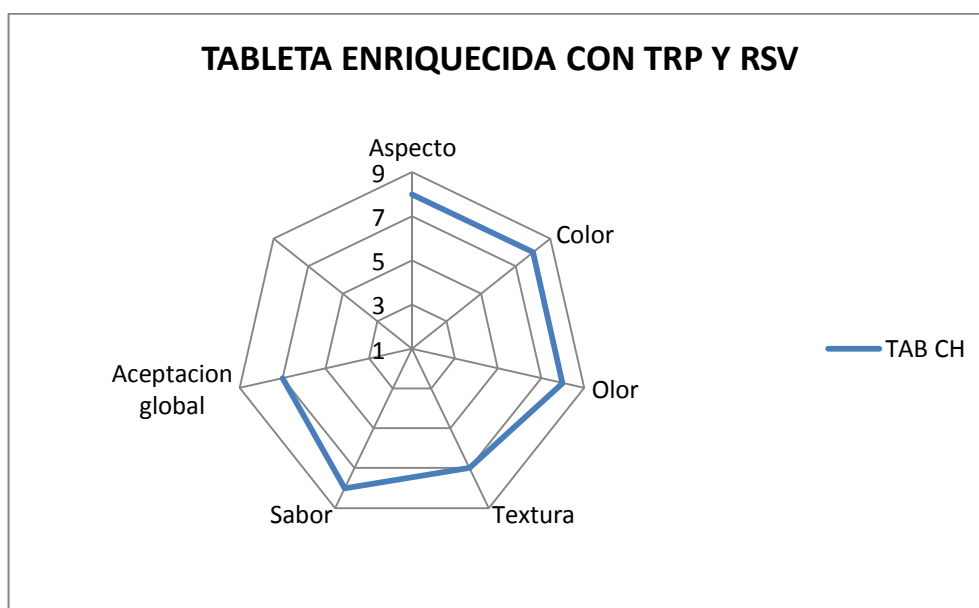


Figura 16. Perfil sensorial final de Tableta enriquecida con Triptófano y Resveratrol.

Atributos como Aspecto, color, olor y sabor se situaron dentro de la escala evaluada por el panel en un valor de ocho puntos, correspondiente a “Me gusta mucho” lo cual representa agrado por parte de los catadores, por su parte textura y aceptación global (como se nombró anteriormente), obtuvieron siete puntos en la escala evaluada (Me gusta moderadamente). La textura se vio afectada principalmente por los dos ingredientes que la enriquecen, ya que son perceptibles en boca. De manera general todos los atributos evaluados por el panel de catadores, estuvo por encima de

5 en la escala señalada en el numeral **(4.5.3 / Anexo B)**, lo que indica que ninguno de los atributos evaluados le es indiferente, si no que por el contrario existe gusto frente a los atributos.

8. FACTOR ATWATER

El chocolate es, ciertamente, un alimento altamente energético, por lo cual constituye un excelente suplemento nutricional para atletas, o para personas con altos requerimientos de actividad física que necesitan reservas energéticas adicionales (alpinistas, maratonistas, soldados en campaña, entre otras), 100 g de chocolate aportan 500 calorías, más que el pan (250 Cal), que la carne (170 Cal), o que la leche entera (70 Cal) (Valenzuela, 2007); en la **tabla 15**. Se puede observar el aporte calórico en Kcal para tableta de chocolate enriquecida con Triptófano y Resveratrol.

Tabla 15. Aporte calórico en Kcal para Tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol.

Muestra	*Kcal/g aportadas			Total Kcal aportadas
	Proteína	Grasa	Carbohidratos	
TABLETA CHOCOLATE	94,36	468,81	42,4	605,57

*Calculado según el factor de Atwater, citado por Stewart, 2014.

El aporte calórico total definido como la cantidad en Kcal aportadas por cada 100 gramos de tableta es de 605, 57 Kcal, de esta manera tendremos que cada paciente consumió diariamente 90,83 Kcal

correspondientes a 15 g de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol diarios, durante 21 días. De la misma manera podemos observar que el mayor aporte calórico en la tableta, lo representan la grasa.

Según [Abreu, E. \(2012\)](#) y [Menchú y Méndez, 2007](#); en la tabla de composición de alimentos se declara que un 100 g de chocolate (tablilla para bebida) aporta 457 Kcal, 100 g de chocolate con leche y maní aporta 519 Kcal, y 100 g de chocolate simple dulce aporta 467 Kcal, lo cual indica que 100 g del chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol aporta considerablemente más calorías que 100 g chocolate con las características nombradas anteriormente.

Por otro lado, la tabla de composición de alimentos del [Instituto Colombiano de bienestar familiar \(ICBF\)](#), afirma que 100 g de un chocolate amargo aporta 628 Kcal, por lo que podemos considerar que 100 g del chocolate formulado aporta 22,43 Kcal menos que un chocolate amargo.

9. ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Se realizó el respectivo análisis microbiológico a la tableta de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol, en la **Tabla 16**. se pueden observar los resultados obtenidos, analizados por medio de la norma COVENIN 52 – 1999 para Chocolate.

Tabla 16. Recuento microbiológico de Mohos y levaduras.

Análisis	Límites		RESULTADOS	Método de ensayo
	mínimo	Máximo		
Mohos (UFC/g)	1×10^2	1×10^3	$< 1 \times 10^3$	COVENIN 1337
Levaduras (UFC/g)	1×10^2	1×10^3	$< 1 \times 10^2$	COVENIN 1337
Salmonella (en 25 g)	0	-	0	COVENIN 1291

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites permitidos por las normas COVENIN 1337 y 1291, lo que permite evidenciar inocuidad en el alimento, relacionadas a las buenas prácticas de manufactura y buenas prácticas agrícolas.

10. ESTUDIO DE INTERVENCION

En la **Tabla 17.** se muestran los resultados estadísticos de las mediciones de peso, cintura, cadera y presión arterial para cada uno de los pacientes antes y después del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol. Los valores reales obtenidos se pueden observar en el **Anexo G.**

Considerando que una población mayor a 30 individuos es considerada normal, no se pudo realizar un análisis estadístico ANOVA ya que una población de 10 individuos no asume normalidad al igual que la prueba no paramétrica utilizada de Kruskal – Wallis.

Tabla 17. Nivel de significancia y media aritmética de las mediciones de IMC, peso, cintura, cadera y presión arterial para cada uno de los pacientes.

PARAMETRO	Nivel de significancia (P=0.05)	DIA CERO	DIA 21
		* \bar{x}	\bar{x}
IMC (Kg/m²)**	0,824	21,9	21,8
PESO (Kg)	0,970	59,8	59,5
CINTURA (cm)	0,821	72,9	72,7
CADERA (cm)	0,850	87,6	87,3
P^oA SISTOLICA (mmHg)	0,545	108,9	112
P^oA DIASTOLICA (mmHg)	0,940	71,9	71

*P^oA: Presión arterial. * \bar{x} = Media Aritmética. Cada valor es el promedio, n=10. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente con Kruskal Wallis con un nivel de significancia (P) del 5%. **IMC: Índice de masa corporal.

Según la Organización Mundial de la salud (OMS), el índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos entre el cuadrado de su talla en metros (kg/m²).

En el caso de los adultos, la OMS define el sobrepeso y la obesidad como se indica a continuación:

Sobrepeso: IMC igual o superior a 25.

Obesidad: IMC igual o superior a 30.

El IMC proporciona la medida más útil del sobrepeso y la obesidad en la población, pues es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades. En los resultados obtenidos se puede observar un IMC normal, el cual no presenta diferencias significativas durante el consumo del chocolate, los mismos se relacionan con los datos de “Texas Heart Institute” quienes

correlacionan valores de IMC entre el 18,5 a 24,9 con una composición corporal normal, en el **Anexo H**, se pueden observar los resultados obtenidos con respecto al IMC.

Del mismo modo, los resultados obtenidos muestran que no existe diferencia significativa de variación de peso en cada uno de los pacientes, en general se observa que las pequeñas variaciones de dicho factor no son estadísticamente significativas; lo mismo ocurre en cuanto a las medidas de cintura y cadera, en donde ninguno de los pacientes presento aumento significativo en ninguna de estas medidas. La presión arterial no se vio afectada por el consumo del chocolate, los resultados indican que no hubo diferencia significativa entre la presión sistólica/ diastólica inicial y final de cada paciente.

Se ha demostrado que disminuir la presión arterial sistólica tan sólo 2 mmHg se traduce a 10% de reducción del riesgo de eventos cerebrovasculares y 7% de reducción en la mortalidad coronaria ([Lewington y col, 2002](#)); sin embargo es indispensable mencionar que este factor puede ser condicionado también por el consumo de alguno otros alimentos o medicamentos fuera de control en este estudio.

Los resultados obtenidos no son representativos a los obtenidos por [Almoosawi y col, 2010](#), en donde se le administraron 20 g de chocolate negro rico en Polifenoles a 14 adultos obesos, obteniendo como resultado reducción de la presión sistólica y diastólica, así mismo un estudio publicado por [Taubert y col, 2013](#), reportó una disminución de la presión sistólica y diastólica, aunque estos resultados no se mantuvieron tras dos días sin chocolate, los autores administraron 100 g de chocolate durante 14 días a 13 individuos adultos con ligera hipertensión, resultando una disminución de la presión arterial al suministrar 100 g de chocolate negro a 15

voluntarios sanos (Grassi y col, 2008); en otro estudio Grassi y col, 2005, obtuvieron disminución de la presión sistólica y diastólica al suministrar 100 g de chocolate durante 15 días a 19 adultos hipertensos con baja tolerancia a la glucosa; en este estudio también reflejó disminución del colesterol total y colesterol LDL. Faridi y col, 2008, reportó disminución de la presión arterial en un estudio realizado a 45 adultos con sobrepeso al suministrar 22 g de polvo de cacao en una barra de chocolate.

Al igual que un chocolate normal, el chocolate formulado contiene una cantidad significativa de grasa, por ello se debe considerar un alimento altamente energético; aunque ensayos clínicos (Gu y col, 2011; Grassi y col, 2005) no han reportado un incremento en el peso corporal cuando el chocolate se consume en cantidades moderadas, por el contrario han demostrado una reducción de peso a expensas de la grasa.

Los datos presentados por el Grupo Latinoamericano de Estudio de Síndrome Metabólico (GLESMO) proponen que una medida normal de circunferencia de cintura para hombres es <94cm y para mujeres <88cm, valores mayores a 94 y 88 cm pueden indicar obesidad abdominal (Aschner y col, 2011; palacios y col, 2012), ninguno de los pacientes medidos antes y después presentó obesidad abdominal (72,9 y 72,7cm respectivamente).

10.1 FRECUENCIA DE CONSUMO

Se les realizó el registro de consumo de alimentos por frecuencia de consumo, antes y después de finalizar el estudio (Lares y col., 2012), los resultados de los alimentos consumidos por los pacientes muy frecuentemente se muestran en la **Figura 17**. los resultados globales obtenidos, se pueden observar en el **anexo I**.

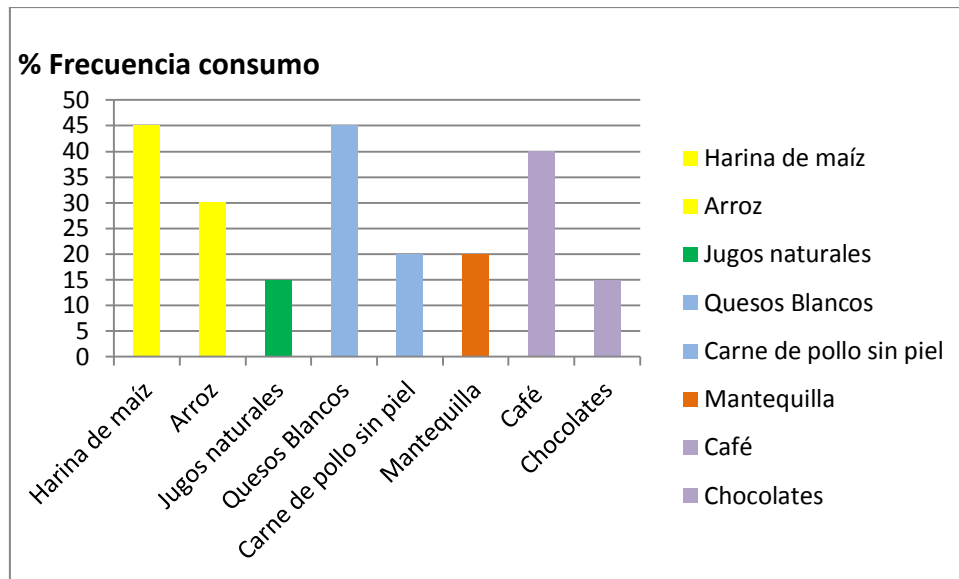


Figura 17. Alimentos consumidos por los pacientes muy frecuente.

Esta tendencia de alimentación antes y después se observó constante para las diferentes franjas de alimentos, en la franja amarilla se encuentran alimentos tales como granos, cereales, tubérculos y plátano, de este grupo sobresalen la harina de maíz (45%) y el arroz (30%) de consumo muy frecuente por parte de los pacientes, este tipo de alimentos incorpora a la dieta carbohidratos en forma de azúcares simples.

La franja verde representa hortalizas y frutas, tan solo un 15% de los pacientes consume jugos naturales muy frecuente, esto disminuye la porción de fibra suministrada a la dieta y facilita la absorción de azúcares simples (Arias, 2016).

La franja azul está conformada por lácteos y sus derivados, carnes y huevos, a esta franja pertenecen alimentos como el queso blanco con un 45% de consumo muy frecuente por parte de los pacientes y la carne de pollo sin piel con un 20%. A la franja naranja pertenecen alimentos ricos en grasas y aceites vegetales, donde se destaca un

consumo muy frecuente de margarina (20%) y finalmente en la franja morada se encuentran alimentos altos en azúcares, para este grupo se observó un consumo muy frecuente de café (40%) y chocolates (15%).

Los datos obtenidos en general fueron muy variados, alimentos con poca frecuencia fueron en los que coincidieron mayoritariamente los pacientes, alimentos de la franja amarilla tales como pastas (65%) y galletas (70%), de la franja verde, frutas enteras o en trozos (70%), de la franja azul alimentos como pescados y enlatados (85% respectivamente), franja naranja mayonesa (65%) y finalmente de la franja morada, helados de crema (75%) y bebidas gaseosas (65%). En base a los resultados podemos inferir que la frecuencia de consumo de alimentos durante el estudio (21 días) se mantuvo constante; es decir, que la dieta de cada paciente antes y después del consumo de chocolate no presenta mucha variación.

10.2 ANALISIS DE LABORATORIO

En **Tabla 18.** se muestran los resultados obtenidos de acuerdo a los parámetros bioquímicos evaluados en los pacientes durante 21 días. Los resultados obtenidos no señalan ningún nivel de significancia representativo excepto para insulina. Cabe destacar que todos los voluntarios se encontraron dentro de los rangos normales para cada uno de los parámetros bioquímicos evaluados antes y después del consumo del chocolate.

Tabla 18. Resultados de los parámetros bioquímicos antes y después del consumo de chocolate.

PARAMETRO	Nivel de significancia (P=0.05)	DIA CERO	DIA 21
		* \bar{x}	\bar{x}
GLICEMIA (mg/dL)	0,112	74,1 ± 6,36	77,8 ± 4,98
INSULINA	0,028	7,06 ± 3,05	4,4 ± 1,71
CREATININA (mg/dL)	0,104	0,65 ± 0,10	0,57 ± 0,08
TRIGLICERIDOS (mg/dL)	0,364	115,5 ± 28,28	106,7 ± 20,70
COLESTEROL TOTAL (mg/dL)	0,089	143,9 ± 16,17	127,2 ± 28,68
HDL (mg/dL)	0,940	40 ± 4,42	39,9 ± 3,72
LDL (mg/dL)	0,059	80,8 ± 11,88	65,96 ± 24,01
VLDL (mg/dL)	0,089	28,78 ± 3,23	25,44 ± 5,73
ACIDO URICO (mg/dL)	0,910	4,13 ± 0,45	4,09 ± 0,45
HOMA	--	1,30 ± 0,57	0,86 ± 0,36

* \bar{x} = Media Aritmética. Cada valor es el promedio ± desviación estándar, n=10. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente con Kruskal Wallis con un nivel de significancia (P) del 5%.

En la **Tabla 18**, se observa el efecto del consumo de chocolate en la cuantificación de marcadores de lipídicos, glicemia y ácido úrico en la población estudiada. No se observaron diferencias significativas en el perfil lipídico (Colesterol total, triglicéridos, colesterol-HDL y colesterol-LDL) antes y después del consumo de chocolate. Estos resultados obtenidos se corresponden con lo reportado por (Lares 2012 y Lares y col, 2014).

A pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas en el perfil lipídico, se denota un ligero descenso del colesterol total, esto podría debido a que la manteca de cacao, una grasa derivada de las plantas y sin colesterol y que se encuentra predominantemente en el chocolate negro, la cual contiene un promedio de 33% de ácido oleico mono-insaturado y el 33% de ácido esteárico. En general, el ácido esteárico no baja la lipoproteína de alta densidad (HDL), ni aumenta el colesterol LDL o total (Lares 2012).

Diversos estudios señalan el efecto beneficioso del consumo de chocolate oscuro en el perfil lipídico. Un estudio realizado en pacientes hipertensos, donde el consumo diario fue de 100g de chocolate oscuro rico en flavonoides por más de 2 semanas, produjo una reducción significativa del 12% de los niveles séricos de colesterol total y LDL (Grassi y col, 2005). Un estudio en Japón demostró que en los pacientes con hipercolesterolemia, el consumo de chocolate oscuro rico en flavanoles disminuye los niveles plasmáticos de LDL y el colesterol LDL oxidado, y aumenta las concentraciones de HDL en suero (Baba y col, 2007a, b).

Los valores de triglicéridos obtenidos en este estudio, no se corroboran con los obtenidos por Kurlandsky y col, 2006, en donde hubo una mejora en los niveles de triglicéridos, incluso, Gutiérrez-Salmeán y col 2014, afirma que hay estudios clínicos que reportan que, específicamente la epicatequina (polifenol: flavonoide presente en el chocolate) reduce significativamente las concentraciones de triglicéridos en la sangre, tanto en ayuno como durante el postprandio (Keen, 2001).

Fraga y col, 2005, confirmaron la disminución del colesterol total y LDL tras suministrar 105 g de chocolate durante 14 días a 28 jóvenes jugadores de futbol, los mismo resultados se vieron reflejados en un estudio elaborado por Grassi y col, 2005 al

suministrar 100 g de chocolate durante 15 días a 19 adultos hipertensos con baja tolerancia a la glucosa.

[Mursu y col, 2004](#), observo un aumento del colesterol HDL sérico al suministrar a 45 voluntarios sanos, no fumadores 75 g de chocolate negro durante 45 semanas; del mismo modo no observaron cambios en la capacidad antioxidante total del plasma, en la susceptibilidad a la oxidación de los lípidos séricos o VLDL + LDL.

El consumo moderado de chocolate oscuro o de productos ricos en sólidos de cacao se ha asociado con mejor perfil de lípidos: HDL más alto junto con menor LDL y colesterol total. Los resultados obtenidos en este estudio son similares a los alcanzados por [\(Barone y Roberts, 1996 citado por Gutiérrez-Salmeán y col, 2014\)](#); demostró que, en el corto plazo, el chocolate disminuye las LDL en ≈ 6 mg/dL sin alterar, significativamente, el colesterol “bueno” (HDL); en este estudio, aunque no hubo diferencia significativa entre los valores de LDL antes y después del consumo de chocolate, se pudo demostrar que si hubo disminución del mismo, lo mismo ocurre para los valores de VLDL pero no con amplio margen.

Según [Viviant, 2014](#); la cafeína y la teobromina (sustancias presentes en el chocolate), son un grupo de componentes hidrosolubles que evitan la oxidación del ácido úrico y tienen propiedades estimulantes en el sistema nervioso, sin embargo en este estudio no se vio ningún cambio representativo respecto a los niveles de ácido úrico antes y después del consumo del chocolate y encontrándose estos en los valores normales.

Según los criterios de la ADA (ver **Tabla 19**), los valores de glicemia en ayunas estuvieron ubicados dentro de un rango normal tanto antes como después del estudio, sin embargo los resultados indican que si hubo diferencia significativa entre los valores de glicemia

obtenidos antes y después del estudio. Los resultados globales obtenidos se pueden ver en el **anexo J y el en anexo K**.

Tabla 19. Criterios Glucosa para detección de diabetes.

Ayunas			Dos (2) horas postcarga jarabe de glucosa (75 – 100g)		
<i>Normal</i>	<i>Prediabetes</i>	<i>Diabetes (potencial)</i>	<i>Normal</i>	<i>Intolerancia Glucosada</i>	<i>Diabetes (potencial)</i>
<100	100 – 125	≥ 126	< 140	140 – 199	≥ 200

Fuente: Asociación Americana de Diabetes (ADA), 2006- 2007.

En la **Tabla 19**, se observa el efecto del consumo de chocolate en los valores de Insulina Resistencia a la Insulina (HOMA). Sólo se observó una disminución estadísticamente significativa en los valores de insulina y resistencia a la insulina por efecto del consumo de chocolate. Estos resultados obtenidos se corresponden con lo reportado por (Lares 2012 y Lares y col, 2014).

Según Lares y col, 2002; los resultados de HOMA en la población normal oscilan de 0,93 a 2,51 y en los diabéticos de 2,91 a 12,87, por lo que se puede considerar que la población estudiada presentó valores normales de HOMA antes y después del consumo del chocolate formulado, con una leve disminución después del consumo del mismo; valores mayores podrían ser indicativo de resistencia insulínica en la práctica diaria en estos pacientes.

La definición más aceptada sobre el síndrome metabólico reconoce como componentes centrales o básicos la obesidad, la resistencia a la insulina, la dislipidemia y la hipertensión (Alberti y col, 2006).

Grassi y col., en el 2005 a,b y 2008, observo que la resistencia a la insulina se reduce en pacientes con hipertensión después de una dieta de 15 días con 100 g de chocolate rico en flavonoides todos los

días. Por otra parte, en pacientes hipertensos con intolerancia a la glucosa, ricos en flavonoides chocolate negro no sólo redujo la presión arterial mejoro la función endotelial, sino también sensibilidad a la insulina mejoró ([Grassi y col., 2008](#)).

En conclusión, el estudio mostró que el chocolate oscuro ricos en polifenoles disminuye y mejora la sensibilidad a la insulina en personas saludables. Estos hallazgos indican que chocolate oscuro puede ejercer una acción protectora sobre el endotelio vascular también mejorando la sensibilidad a la insulina ([Grassi y col., 2005](#)).

[Nguyen y col, 1994](#), ratificaron un aumento de la insulina y la creatinina al suministrar 100 g de barra de chocolate negro (45 g de cacao y 55 g de sacarosa) en sangre a 10 sujetos sanos en ayunas y cada 30 minutos hasta 180 minutos.

Se ha establecido una estrecha relación entre la obesidad – particularmente la abdominal– y la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus tipo 2 ([Farag y Gaballa, 2011](#)). En esas enfermedades el consumo de chocolate oscuro ha demostrado reducir la resistencia a la insulina y, de esta manera, atenuar la glucemia en ayuno o postprandial (por ejemplo, después de comer) ([Isomaa y col, 2001](#)).

Es importante resaltar que las variaciones de insulina u HOMA no son debidas a cambios en su dieta como se puedo corroborar con el estudio de frecuencia de consumo, estas variaciones podrían ser atribuidas al efecto de los polifenoles (Flavan-3-ol, procianidinas y resveratrol) del chocolate.

Fernandez y col, 2007, afirman que las proantocianidinas modulan positivamente gran número de procesos implicados en el desarrollo del síndrome metabólico: estrés oxidativo, captación de glucosa y resistencia a la insulina. Los resultados obtenidos por García, 2013, reflejaron una menor resistencia a la insulina (niveles de insulina y parámetro HOMA disminuyeron) en los grupos tratados con flavonoides, respecto al grupo control, tras comprobar el efecto de 4 tipos de flavonoides en un estudio experimental con 60 ratones.

Cordero, 2015, señala que los resultados obtenidos en su investigación han puesto de manifiesto que los flavanoles del cacao son capaces de modular el metabolismo glucídico y lipídico en las células hepáticas, mejorando la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa en una situación de resistencia a la insulina y diabetes. Además, mantienen el equilibrio redox durante el estrés oxidativo que tiene lugar durante la resistencia a la insulina y diabetes.

Estudios recientes han puesto de manifiesto que las alteraciones que se producen durante la resistencia a la insulina y la diabetes son consecuencia, al menos en parte, del estrés oxidativo, y que dicho estrés juega un papel crítico en el desarrollo de las complicaciones de la diabetes (Rochette y col, 2014; King y Loeken, 2004).

10.3 MARCADOR DE ESTRÉS OXIDATIVO: 8-ISOPROTANO

A los efectos beneficiosos de los flavonoides: flavan-3-oles y sus derivados oligoméricos, proantocianidinas (presentes en el cacao) y el resveratrol (presente en la piel y semilla de las uvas) suelen atribuirse generalmente a su gran capacidad antioxidante, al ser

potentes captadores de ROS; según [Carnevale y col, 2012](#), el chocolate negro es rico en polifenoles que podrían ejercer una acción antiplaquetaria mediante la inhibición del estrés oxidativo. En la **Tabla X**. se pueden observar los resultados obtenidos para el marcador de estrés oxidativo aquí evaluado, antes y del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol, los resultados globales en cuanto al marcador de estrés oxidativo 8- isoprostano se pueden observar en el **Anexo L**.

Tabla 20. Resultados marcador de estrés oxidativo 8 – isoprostano (8- iso PGF2 α) en pacientes sanos a los cuales se dios a consumir diariamente 15 g de una tableta enriquecida con triptófano y resveratrol durante 21 días.

Marcador de estrés oxidativo	Nivel de significancia (P= 0.05)	DIA CERO	DIA 21
		* \bar{x}	\bar{x}
Población	0,005	128,31 \pm 55,88 pg/mL	82,66 \pm 43,30 pg/mL

* \bar{x} = Media Aritmética. Cada valor es el promedio \pm desviación estándar, n=10. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente con Wilcoxon con un nivel de significancia (P) del 5%.

En el presente estudio se obtuvo un nivel de significancia menor a α (0.05), por lo tanto rechazamos la hipótesis nula (no existen diferencias significativas entre las medianas de los dos momentos) y aceptamos la hipótesis alternativa, por lo que se pudo demostrar que existe una disminución estadísticamente significativa entre los valores del 8-isoprostano antes y después del tratamiento, sugiriendo estos resultados una posible modulación del estrés

oxidativo, estos resultados se corroboran con los obtenidos por [Carnevale y col, 2012](#), quienes evaluaron el mismo marcador de estrés oxidativos (8- iso PGF2 α), y concluyeron que el chocolate negro inhibe la función plaquetaria al reducir el estrés oxidativo en fumadores.

[Cordero, 2015](#), señala los flavanoles del cacao mantienen el equilibrio redox durante el estrés oxidativo que tiene lugar durante la resistencia a la insulina y diabetes; sus resultados obtenidos señalan que la administración de una dieta enriquecida en cacao a ratas ZDF protegieron frente al estrés oxidativo y que todos los tratamientos (con epicatequina (EC) y extracto fenólico del cacao (CPE)) disminuyeron la generación de ROS en ratas.

[Lares \(2012\)](#), corroboró el efecto antioxidante de los componentes del chocolate oscuro tras administrar 20 g diarios del mismo durante 1 semana, al evaluar los efectos del consumo de chocolate oscuro en 12 sujetos metabólicamente sanos, y efectuando las determinaciones de los marcadores: de estrés oxidativo (8-isoprostano), inflamación (factor de necrosis tumoral- α) y protombrótico (fibrinógeno); el estudio demostró una disminución estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) en el marcador de estrés oxidativo 8-Isoprostanos, posiblemente por efecto de los polifenoles presentes en el chocolate oscuro.

Numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* muestran que el cacao y sus flavonoides ejercen un efecto antioxidante al neutralizar directamente los radicales libres ([Corti y col, 2009](#); [Lamuela-Raventós y col, 2005](#)) y activar a las enzimas antioxidantes ([Ramiro-Puig y col, 2009](#)). Así, el consumo de cacao y chocolate negro aumenta la capacidad antioxidante plasmática en animales y humanos ([Vinson y col, 2006](#); [Wang y col, 200](#); [Baba y col, 2000](#)) y la vasodilatación ([Corti y col, 2009](#)). Además, la suplementación de

la dieta con cacao o chocolate negro disminuye el estrés oxidativo en ratones obesos y diabéticos (Jalil y col, 2008).

10.4 CATALASA

El peróxido de hidrógeno, un especie reactiva del oxígeno (ROS) importante, se produce de forma endógena e históricamente se ha percibido como deletéreo promoviendo daño oxidante a las células (Camhi y col, 1995). Bien conocido por su papel en la metabolización del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, la catalasa evita el daño del oxidante celular mediante la eliminación del peróxido de hidrógeno (Lubos y col, 2011). En la **Tabla 21**. se muestran los resultados obtenidos al medir el marcador de estrés oxidativo enzimático (CAT), antes y después del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol. Los resultados globales se pueden observar en el **Anexo M**.

Tabla 21. Resultados Catalasa en pacientes sanos a los cuales se dios a consumir diariamente 15 g de una tableta enriquecida con triptófano y resveratrol durante 21 días.

Marcador de estrés oxidativo enzimático	Nivel de significancia (P= 0.05)	DIA CERO	DIA 21
		* \bar{x}	\bar{x}
Población	0,032	77,59 ± 22,72 kU/L	112,94 ± 45,17 kU/L

* \bar{x} = Media Aritmética. Cada valor es el promedio ± desviación estándar, n=10. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente con Wilcoxon con un nivel de significancia (P) del 5%.

Los resultados obtenidos muestran diferencia significativa en cuanto al aumento de la catalasa luego del consumo de chocolate durante 21 días. Estos resultados coinciden con lo demostrado por [\(Heit y col, 2017\)](#), quienes afirman que la ausencia de catalasa que conduce a la resistencia a la insulina en ratones, en este caso la presencia de la catalasa no indujo insulino/resistencia.

La catalasa protege las células y los tejidos contra el daño oxidativo y también puede influir en los mecanismos de transducción de señales; estudios sugieren que los individuos acatalasemicos (es decir, con la actividad catalasa muy baja) tienen un riesgo más alto para el desarrollo de la diabetes, [\(Heit y col, 2017\)](#), corroboran que los ratones desprovistos de catalasa desarrollan un fenotipo obeso, pre-diabético y proporcionan evidencia convincente de que la catalasa (o sus productos) sea integral en la regulación metabólica.

La CAT ha sido ampliamente estudiada en relación con su participación en numerosos procesos patológicos de gran importancia en las investigaciones biomédicas, [Ulker y col, 2003](#), sugieren que parte de la vasoconstricción característica de la aorta torácica es debida a la acción del H₂O₂, puesto que la catalasa acentúa la vasorelajación.

La catalasa puede interactuar con los sistemas de detoxificación celular [\(Curin y Andriantsitohaina, 2005\)](#).

Los resultados obtenidos en relación a los marcadores de estrés oxidativo se correlacionan muy bien, mientras uno disminuye significativamente (8 isoprotano), el otro aumenta de igual forma (catalasa), estos se debe a que el 8 isoprostano surge como un compuesto derivado de la peroxidación lipídica capaz de indicar el estrés oxidativo, descenso que indicaría una disminución significativa del estrés oxidativo en sangre, mientras que la catalasa

protege células y tejidos contra el daño oxidativo, aumento que ayudaría en el mantenimiento del balance oxidante/antioxidante en el organismo; todo lo anterior relacionado al consumo del chocolate formulado.

10.5 EVALUACION PSICOLOGICA DEL PANELISTA

En la **Tabla 22.** se observan los resultados obtenidos tras aplicar el test de depresión de Beck antes (día cero) y después (día 21) de consumir la tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol. Los resultados globales se pueden observar en el **Anexo N.**

Tabla 22. Resultados Test Beck.

TEST BECK	Nivel de significancia (P= 0.05)	DIA CERO	DIA 21
		* \bar{x}	\bar{x}
Población	0,096	4,5	2,5

* \bar{x} = Media Aritmética. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente con Kruskal Wallis con un nivel de significancia (P) del 5%.

Los resultados no muestran diferencia significativa en cuanto a los resultados obtenidos antes y después de aplicar el test de depresión de Beck; la media aritmética obtenida muestra altibajos considerados normales según explica (Beck y col, 1961), estos resultados reafirman lo obtenido por Salonia y col, 2006; al no observar diferencias significativas en relación con la depresión, entre voluntarios que consumían chocolate regularmente.

Los resultados obtenidos no son conformes a lo obtenido en el centro de Investigación y capacitación en confitería, en donde se desarrolló un chocolate sin azúcar con comprobación médica que tuvo efectos positivos en sus consumidores, reduciendo el estado depresivo de quien lo consume (comprobado por medio del test de Beck), en especial en mujeres entre 35 y 45 años, aprovechando los beneficios del cacao y la coenzima Q10 sin aumentos de masa corporal.

Sin embargo los resultados obtenidos si son conformes a lo obtenido por (Macdiarmid, & Hetherington, 1995), quienes evaluaron la relación entre el estado de ánimo y la ingesta de chocolate, concluyendo los adictos presentaron un nivel de depresión un poco mayor que el grupo control aunque comer chocolate no mejoro el estado de ánimo; los autores afirman también que el chocolate es un alimento que proporciona placer, a pesar de que cualquier placer experimentado es de corta duración y va acompañado de sentimientos de culpa.

Según Bruinsma y Taren, 1999; el chocolate puede ser utilizado por algunos como una forma de automedicación para deficiencias dietéticas (por ejemplo, magnesio) o para equilibrar los niveles bajos de neurotransmisores involucrados en la regulación del estado de ánimo, la ingesta de alimentos y comportamientos compulsivos (por ejemplo, serotonina y dopamina); Parker y col, 2006, aseguran que cualquier efecto estado de ánimo provocado por un chocolate es tan efímero como tener un chocolate en la boca.

El chocolate puede interactuar con un numero de sistemas de neurotransmisores (incluyendo dopamina, serotonina y endorfina) que contribuyen al apetito, recompensa y estado de ánimo (Parker y col, 2006);

Moller, 1992; Wurtman and Wurtman, 1989; sugieren que la serotonina actúa a través de un mecanismo de biofeedback para regular el consumo de carbohidratos; el aminoácido triptófano normalmente circula en bajas concentraciones, pero cuando los carbohidratos entran en el torrente sanguíneo, estimulan la producción de insulina y facilitan la absorción de la mayoría de los aminoácidos, excluyendo el triptófano, en los tejidos.

La proporción de triptófano circulante aumenta con relación a otros aminoácidos, facilitando su paso a través de la barrera hematoencefálica, donde se convierte en serotonina. Las variaciones en los niveles de serotonina a su vez influyen en la ingesta de carbohidratos (Parker y col, 2006).

Wurtman y Wurtman (1989) plantearon la hipótesis de que, en algunas condiciones cíclicas como el trastorno afectivo estacional, existe una perturbación del mecanismo de retroalimentación entre la ingesta de serotonina y carbohidratos en la que persiste el deseo de hidratos de carbono.

Según (Parker y col, 2006), los carbohidratos (golosinas – incluyendo el chocolate) tienen un efecto reconfortante y promueven las sensación de “sentirse bien” a través de la liberación de múltiples péptidos cerebrales, del mismo modo el consumo de carbohidratos tiene un impacto en los neurotransmisores cerebrales relacionándolos con beneficios antidepresivos, el mismo autor afirma que los mismos son una forma de automedicación antidepresiva, sin embargo, los vínculos entre la depresión y el apetito son complejos.

Así pues, podemos concluir que no hubo efecto significativo frente al estado anímico de los panelistas puesto que la tableta de chocolate tiene un muy bajo contenido en carbohidratos (10,6%) como se pudo corroborar en la **Tabla 10**.

CONCLUSIONES

11. CONCLUSIONES

Se obtuvo un chocolate con propiedades sensoriales aceptadas por los consumidores, todos los atributos evaluados estuvieron por encima de 5 y 6 en la escala evaluada correspondiente a me es indiferente y me gusta poco respectivamente, lo cual lo hace un producto viable para su comercialización.

El contenido graso del chocolate formulado fue elevado (52,09%), sin embargo este porcentaje de grasa corresponde mayoritariamente a ácidos tales como el esteárico (no afecta los niveles de colesterol en el torrente sanguíneo), ácido oleico (beneficiosos para prevenir y combatir el cáncer de mama), el ácido palmítico (aumenta los niveles de colesterol plasmático) también presente en el chocolate no afecto considerablemente los niveles de colesterol en sangre.

La capacidad antioxidante del chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol es mayor al de algunas frutas lo que lo hace una fuente alterna y mayor de antioxidantes.

Las variaciones del color entre el chocolate formulado y uno comercial, son apreciadas por el ojo humano, indicando que son diferentes entre sí a simple vista.

Los resultados obtenidos en el análisis microestructural de la tableta de chocolate formulada coinciden con las observaciones señaladas por los jueces en la evaluación sensorial final de la misma, estimando así, presencia de partículas residuales en boca mayores a 30 micras, fácilmente visibles en las imágenes obtenidas al determinar el tamaño de partícula del chocolate.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol, no altera negativa ni positivamente los parámetros bioquímicos de Glicemia, Creatinina, Triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, ácido úrico.

En estudio corroboró que en el 70% de los pacientes disminuyó el Colesterol Total luego de 21 días y solo el 40% experimentó un aumento en la expresión del HDL.

La tableta de chocolate enriquecida con triptófano y resveratrol ayuda significativamente a la disminución de Insulina en sangre, luego de consumir 15 g de la misma durante 21 días, lo cual lo hace un alimento funcional posiblemente recomendado a personas con diabetes.

El contenido de polifenoles totales no se correlaciona bien con la actividad antioxidante; sin embargo el chocolate formulado podría tener los efectos beneficiosos para la salud relacionados con la disminución de la insulino resistencia y la prevención de enfermedades tales como el síndrome metabólico y diabetes debido a la disminución del estrés oxidativo.

La tableta de chocolate formulada no afectó el estado anímico de los voluntarios.

RECOMENDACIONES

12. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar el análisis de determinación de capacidad antioxidante, polifenoles totales y EC_{50} por diferentes métodos para determinar efectivamente cual es el método más apropiado para establecer dicho valor.

Se recomienda aumentar la población o muestra, debido a que algunos de los resultados no se ven significativamente modificados porque la población realmente fue muy baja.

13. BIBLIOGRAFIA

Aan het Rot, M., Moskowitz, D., Pinard, G., & Young, S. (2006). Social behaviour and mood in everyday life: The effects of tryptophan in quarrelsome individuals. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 31(4), p253.

Abreu, E. (2012). Tabla de composición de los alimentos. Instituto nacional de Nutrición. Ministerio del poder popular para la alimentación. Caracas, Venezuela. 187p.

Ácido Úrico. Consultado el 04/01/2017. Disponible en: [Disponible en: misremedios.com/dolencias/acido-urico/](http://misremedios.com/dolencias/acido-urico/)

Adamson, G. E., Lazarus, S. A., Mitchell, A. E., Prior, R. L., Cao, G., Jacobs, P. H., ... & Schmitz, H. H. (1999). HPLC method for the quantification of procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4184-4188.

Albensi, B. C., & Mattson, M. P. (2000). Evidence for the involvement of TNF and NFκB in hippocampal synaptic plasticity. *Synapse*, 35(2), 151-159.

Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P., & Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from

the international diabetes federation. *Diabetic medicine*, 23(5), 469-480.

Alean, J., Chejne, F., & Rojano, B. (2016). Degradation of polyphenols during the cocoa drying process. *Journal of Food Engineering*, 189, 99-105.

Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M. (2007a). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. *Trends in Food Science and Technology* 18, 290–298. doi:10.1016/j.tifs.2007.02.002.

Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M. (2007b). Effects of particle size distribution and composition on rheological properties of dark chocolate. *European Food Research and Technology*.doi:10.1007/s00217-007-0652-6 (Online, April 2007).

Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Vieira, J. (2008). Particle size distribution and compositional effects on textural properties and appearance of dark chocolates. *Journal of FoodEngineering*, 87(2), 181-190.

Allen, R. R., Carson, L., Kwik-Urbe, C., Evans, E. M., & Erdman, J. W. (2008). Daily consumption of a dark chocolate containing flavanols and added sterol esters affects cardiovascular risk factors in a normotensive population with elevated cholesterol. *The Journal of nutrition*, 138(4), 725-731.

Almoosawi S, Fyfe L, Ho C, Al-Dujaili E. (2010). The effect of polyphenol-rich dark chocolate on fasting capillary whole blood glucose, total cholesterol, blood pressure and glucocorticoids in healthy overweight and obese subjects. *British Journal of Nutrition* 2010; 103: 842-850.

Álvarez, C. (2014). Capítulo III. Cristalización de la grasa en el chocolate. En Gutiérrez T y Pérez E. Ed(s) *Ciencia, Tecnología e Industria del Chocolate*. Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACYT). Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y Tecnología. En prensa.

Andres-Lacueva, C., Monagas, M., Khan, N., Izquierdo-Pulido, M., Urpi-Sarda, M., Permanyer, J., & Lamuela-Raventos, R. M. (2008). Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(9), 3111-3117.

AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemist. Official Method of Analysis of the A N° 963.15. (Fat in cacao products: Soxhlet extraction method) y N° 939.02 (Crude protein determination. Kjeldahl procedure).

Arias, Y. (2016). Evaluación de factores agravantes en pacientes con pie diabético. Trabajo especial de grado. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 119p.

Aron, P. M., & Kennedy, J. A. (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Molecular nutrition & food research*, 52(1), 79-104.

Aschner, P., Buendia, R., Brajkovich, I., Gonzales, A., Figueredo, R., Juarez, X., y colaboradores. (2011). Determination of the cutoff point for waist circumference that establishes the presence of abdominal obesity in latinamerican men and women. *Diabetes Research Clinical Practice* 93 (2): 243 – 247.

Asensi M, Medina I, Ortega A, Carretero J, Baño MC, Obrador E & Estrela J. (2002). Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radical Biology & Medicine* 33.

Asociación Americana de Diabetes (ADA), 2006- 2007. Disponible en <http://www.maxvitae.com/2011/11/resistencia-la-insulina-diabetes-y-el.html>

Athar, M., Back, J. H., Tang, X., Kim, K. H., Kopelovich, L., Bickers, D. R., & Kim, A. L. (2007). Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicology and applied pharmacology*, 224(3), 274-283.

ATP III – Adult Treatment Panel III. (2004). Recomendaciones del tercer reporte del panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) sobre la detección, evaluación, y tratamiento del colesterol sanguíneo elevado en adultos

Baba, S., Natsume, M., Yasuda, A., Nakamura, Y., Tamura, T., Osakabe, N., Kanegae, M., y Kondo, K. (2007a). Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo-and hypercholesterolemic humans after intake of different levels of cocoa powder. *The Journal of nutrition*, 137(6), 1436-1441.

Baba, S., Osakabe, N., Kato, Y., Natsume, M., Yasuda, A., Kido, T., Fukuda, K., Muto Y., y Kondo, K. (2007b). Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 85(3), 709-717.

Baba, S., Osakabe, N., Natsume, M., Yasuda, A., Takizawa, T., Nakamura, T., & Terao, J. (2000). Cocoa powder enhances the level of antioxidative activity in rat plasma. *British Journal of Nutrition*, 84(05), 673-680.

Badimon, L., Vilahur, G., & Padro, T. (2010). Nutraceuticals and atherosclerosis: human trials. *Cardiovascular therapeutics*, 28(4), 202-215. JOAO Thesis

Banerjee, M. U. K. U. L., Kang, K. H., Morrow, J. D., Roberts, L. J., & Newman, J. H. (1992). Effects of a novel prostaglandin, 8-epi-PGF2 alpha, in rabbit lung in situ. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 263(3), H660-H663.

Barberán, T. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación Nutrición y Salud*, 10(2), 41-53.

Barone JJ, Roberts HR (1996) Caffeine consumption. *Food and Chemical Toxicology* 34:119–1129

Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A & et al. (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 444: 337-342.

Beck, A. T., Ward, C., & Mendelson, M. (1961). Beck depression inventory (BDI). *Archives of General Psychiatry*, 4(6), 561-571.

Beckett, S.T., (2003). Is the taste of British milk chocolate different? *International Journal of Dairy Technology* 56, 139–142

Beckett, S. (2008). *The Science of Chocolate*. Formerly Nestlé product technology center, York UK. Publish by Royal Society of Chemistry. Cambridge CB4 0WF: p252.

Beckman, J. A., Goldfine, A. B., Gordon, M. B., Garrett, L. A., Keaney, J. F., & Creager, M. A. (2003). Oral antioxidant therapy improves endothelial function in Type 1 but not Type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 285(6), H2392-H2398.

Benavente-Garcia, O., & Castillo, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15), 6185-6205.

Bermúdez, V., Cano, C., Medina, M., Bermúdez, F., Lemus, M., Núñez, M., ... & Rojas, J. (2000). Homeostasis model assessment (HOMA) en pacientes diabéticos tipo 2. *Med. interna (Caracas)*, 16(3), 163-168.

Bertazzo A., Comai S., Brunato LI., Zancato M., Costa C. (2011). The content of protein and non-protein (free and protein-bound) tryptophan in *Theobroma cacao* beans. *Food Chemistry*. 124(1):93-96.

Bjorkhem, I., Heverin, M., Leoni, V., Meaney, S., & Diczfalusy, U. (2006). Oxysterols and Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*, 114(s185), 43-49.

Bootello, M. A., Garcés, R., Martínez-Force, E., & Salas, J. J. (2011). Dry fractionation and crystallization kinetics of high-oleic high-stearic sunflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(10), 1511-1519.

Borge, A. M., Solano, M. V., & Valverde, J. P. S. (2013). Farmacología metabolismo. *Revista médica de costa rica y centroamérica*. 70(608), 679-684.

Bruinsma, K., & Taren, D. L. (1999). Chocolate: food or drug?. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(10), 1249-1256.

Burns, J., Yokota, T., Ashihara, H., Lean, M. E., & Crozier, A. (2002). Plant foods and herbal sources of resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3337-3340.

Busse Valverde, N. (2013). Proantocianidinas de uvas y vinos de las variedades Monastrell, Cabernet Sauvignon y Syrah. Proyecto de investigación. Universidad de Murcia. Departamento de tecnología de alimentos, nutrición y bromatología. p190.

Bustos, A. S., Calisaya, J. C., Paredes, C., Duran, G., Taquichiri, M., Alvarado, J. A., & Peñarrieta, J. M. (2012). Cuantificación de resveratrol en vinos mediante HPLC. *Revista Boliviana de Química* N°29, 164p.

Cala, T. y Herrera, Y. (2008). Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Universidad Industrial de Santander. 91p.

Camhi, S. L., Lee, P., & Choi, A. M. (1995). The oxidative stress response. *New horizons* (Baltimore, Md.), 3(2), 170-182.

Campillo J. 2014. Glucosa e insulina. Los azúcares, la diabetes y el síndrome metabólico. Consultado el 04/01/2017. Disponible en: <http://www.eldiariomontanes.es/v/20100814/sociedad/cantabria-mesa/glucosa-insulina-20100814.html>

Carnevale, R., Loffredo, L., Pignatelli, P., Nocella, C., Bartimoccia, S., Di Santo, S., ... & Violi, F. (2012). Dark chocolate inhibits platelet isoprostanes via NOX2 down-regulation in smokers. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 10(1), 125-132.

Carpenter, D. R., Hammerstone, J. F., Romanczyk, L. J., & Aitken, W. M. (1994). Lipid composition of *Herrania* and *Theobroma* seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(8), 845-851.

Céspedes Miranda, E. M., Hernández Lantigua, I., & Llópiz Janer, N. (1996). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 15(2), 0-0.

Chaiseri, S., Arruda, D. H., Dimick, P. S., & Enriquez, G. A. (1989). Thermal characteristics and composition of fats from *Theobroma* species. *Turrialba: revista interamericano de ciencias agricolas*.

Chaiseri, S., & Dimick, P. S. (1989). Lipid and hardness characteristics of cocoa butters from different geographic regions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66(12), 1771-1776.

Chevaux, K. A., Jackson, L., Villar, M. E., Mundt, J. A., Commisso, J. F., Adamson, G. E., ... & Hollenberg, N. K. (2001). Proximate, mineral and procyanidin content of certain foods and beverages consumed by the Kuna Amerinds of Panama. *Journal of food composition and analysis*, 14(6), 553-563.

Chitnis, R., Abichandani, M., Nigman, P., Nahar, L., & Sarker, S. D. (2007). Actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos de *Piper cubeba* (Piperaceae).

Ciappini, M. C., Gatti, M. B., & Navarro, S. (2008). Influencia de la humedad del grano de maní de confitería en su calidad sensorial y vida útil. *Invenio*, 11(20), 91-103.

Codex Alimentarius: Norma del Codex para el Chocolate CODEX STAN 87- 1991

Codex Alimentarius: código internacional recomendado de prácticas de higiene para el maní (cacahuete) CAC/RCP 22-19791

Comai S., Bertazzo A., Bailoni L., Zancato M., Costa C., Allegri G. (2007^a). Protein and non-protein (free and protein-bound) tryptophan in legume seeds. *Food Chemistry*. 103(2): 657-661.

Comai S., Bertazzo A., Bailoni L., Zancato M., Costa C., Allegri G. (2007^b). The content of proteic and nonproteic (free and protein-bound) tryptophan in quinoa and cereal flours. *Food Chemistry*. 100 (4): 1350-1355.

Contractor, A., Swanson, G. T., Sailer, A., O'Gorman, S., & Heinemann, S. F. (2000). Identification of the kainate receptor subunits underlying modulation of excitatory synaptic transmission in the CA3 region of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 20(22), 8269-8278.

Contreras, F., Lares, M., Magaldi, L., María, A., & Velasco, M. (2008). Determinación de la sensibilidad insulínica por el Modelo Matemático de Homeostasis Modelo Assessment (HOMA) en pacientes diabéticos tipo 2 e hipertensos. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*, 3(6), 201-204.

Cordero Herrera, I. (2015). Mecanismos de acción de los flavanoles del cacao en las células hepáticas durante la resistencia a la insulina y la diabetes: estudio en cultivos celulares y en animales de experimentación (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).

Corti, R., Flammer, A. J., Hollenberg, N. K., & Lüscher, T. F. (2009). Cocoa and cardiovascular health. *Circulation*, 119(10), 1433-1441.

Costa, C., Bettero, A., & Allegri, G. (1987). Rapid measurement of tryptophan, 5-hydroxytryptophan, serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid in human CSF by selective fluorescence and HPLC. *Giorn It Chim Clin*, 12, 307-312.

Counet, C., Callemien, D., & Collin, S. (2006). Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid. *Food Chemistry*, 98(4), 649-657.

Covenin, N. V. (1999). COVENIN 52-1999. Alimentos. Chocolate (1ª. Revisión). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA.

Covenin, N. V. (1990). COVENIN 1337-1990. Alimentos. Método para recuento de mohos y levaduras (1ª. Revisión). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA.

Covenin, N. 1291-88. Alimentos. Aislamiento e identificación de Salmonella. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Fondonorma. Venezuela.

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural product reports*, 26(8), 1001-1043.

Cubero J. 2004. Triptófano, melatonina y ritmos de actividad/inactividad en animales diurnos y niños lactantes. Fagocitosis y metabolismo oxidativo. Universidad de Extremadura. España. ISBN: 84-7723-660-7:34.

Cubero, J. Rodríguez, A. Narciso, D. Valero V., Paredes, S., Sánchez J., y Barriga, C. 2006. Anotaciones básicas sobre el

aminoácido triptófano. *Enfermería global: Revista electrónica semestral de enfermería*. ISSN: 1695-6141: 6.

Curin, Y., Andriantsitohaina, R., 2005. Polyphenols as potential therapeutical agents against cardiovascular diseases. *Pharmacol. Rep. PR 57 Suppl*, 97–107.

Dai, L., Lamb, D. J., Leake, D. S., Kus, M. L., Jones, H. W., Morris, C. J., & Winyard, P. G. (2000). Evidence for oxidised low density lipoprotein in synovial fluid from rheumatoid arthritis patients. *Free radical research*, 32(6), 479-486.

Dani, C., Oliboni, L. S., Umezu, F. M., Pasquali, M. A., Salvador, M., Moreira, J. C. F., & Henriques, J. A. P. (2009). Antioxidant and antigenotoxic activities of purple grape juice—organic and conventional—in adult rats. *Journal of medicinal food*, 12(5), 1111-1118.

Davignon, J., & Ganz, P. (2004). Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*, 109(23 suppl 1), III-27.

Dreosti, I. E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, 16(7), 692-694.

Duvernoy, H. M. (2005). *The human hippocampus: functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI*. Springer Science & Business Media.

de Faria, A. P., Modolo, R., & Moreno, H. (2016). Plasma 8-Isoprostane as a Biomarker and Applications to Cardiovascular Disease 21. *Biomarkers in Cardiovascular*, 467.

Delgado P., Charney D., Price L., Aghajanian G., Landis H. y Heninger G. (1990). Serotonin function and the mechanism of antidepressant action: Reversal of antidepressant induced remission by rapid depletion on plasma tryptophan. *Archives of General Psychiatry*. 47(5):411-418.

Dey, A., & Lakshmanan, J. (2013). The role of antioxidants and other agents in alleviating hyperglycemia mediated oxidative stress and injury in liver. *Food & function*, 4(8), 1148-1184.

Diaz, G., Garcia, J., Ramirez, J., Parra, R. (2009). Repercusión de la serotonina en el comportamiento social. XXVIII Congreso nacional de enfermería. Especialistas en Análisis Clínicos "Preanalítica, función de enfermería". Hospital Materno Infantil. Complejo Hospitalario Carlos Haya Malaga. España. 11.

Dinges D., Douglas S., Zaugg L., y Campbell D. (1994). Leukocytosis and natural killer cell function parallel neurobehavioral fatigue induced by 64 hours of sleep deprivation. *Journal of Clinical Investigation*. 93(5): 1930-1937.

du Plessis SS, Kashou A, Vaamonde D, Agarwal A. (2011). Is there a link between exercise and male factor infertility. *Open Reproductive Science Journal*. 3: 105–113.

Eising, R., Trelease, R. N., & Ni, W. (1990). Biogenesis of catalase in glyoxysomes and leaf-type peroxisomes of sunflower cotyledons. *Archives of biochemistry and biophysics*, 278(1), 258-264.

Endemann, D. H., Pu, Q., De Ciuceis, C., Savoia, C., Viridis, A., Neves, M. F., ... & Schiffrin, E. L. (2004). Persistent remodeling of

resistance arteries in type 2 diabetic patients on antihypertensive treatment. *Hypertension*, 43(2), 399-404.

Engler, M. M., Engler, M. B., Malloy, M. J., Chiu, E. Y., Schloetter, M. C., Paul, S. M., ... & Ridker, P. M. (2003). Antioxidant vitamins C and E improve endothelial function in children with hyperlipidemia. *Circulation*, 108(9), 1059-1063.

Farag, Y. M., & Gaballa, M. R. (2011). Diabetes: an overview of a rising epidemic. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 26(1), 28-35.

Faridi, Z., Njike, V. Y., Dutta, S., Ali, A., & Katz, D. L. (2008). Acute dark chocolate and cocoa ingestion and endothelial function: a randomized controlled crossover trial. *The American journal of clinical nutrition*, 88(1), 58-63.

Fernández-Larrea, J., Pinent, M., Bladé, M. C., Salvadó, M. J., Blay, M., Pujadas, G., ... & Arola, L. (2007). Alimentos ricos en procianidinas, alimentación funcional para prevenir la aparición de síndrome metabólico. *Revista Española de Obesidad*, 5(2), 98-108.

Fernández-Murga, L., Tarín, J. J., García-Perez, M. A., & Cano, A. (2011). The impact of chocolate on cardiovascular health. *Maturitas*, 69(4), 312-321.

Fernández-Pachón, M. S., Villano, D., Garcia-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2004). Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 113-118.

Fernández, V., Yee, A., Sulbarán, B., & Peña, J. (2014). Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en chocolates comerciales venezolanos. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 31(1).

Fisher, R. S., Boas, W. V. E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470-472.

Flórez-Méndez, J. (2014). Síntesis de serotonina por efecto del consumo de alimentos ricos en triptófano. Seminario I-Doctorado. Universidad Central de Venezuela. p74.

Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 226(1), 497-509.

Fonseca-Kelly, Z., Nassrallah, M., Uribe, J., Khan, R. S., Dine, K., Dutt, M., & Shindler, K. S. (2012). Resveratrol neuroprotection in a chronic mouse model of multiple sclerosis. *Frontiers in neurology*, 3.

Foresti, M. L., Arisi, G. M., & Shapiro, L. A. (2011). Role of glia in epilepsy-associated neuropathology, neuroinflammation and neurogenesis. *Brain research reviews*, 66(1), 115-122.

Foti-Cuzzola, V., Ciurleo, R., Giacoppo, S., Marino, S., & Bramanti, P. (2011). Role of resveratrol and its analogues in the treatment of neurodegenerative diseases: focus on recent discoveries. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 10(7), 849-862.

Fraga CG, Actis-Goretta L, Ottaviani JI, Carrasquedo F, Lotito SB, Lazarus S, Schmitz HH, Keen CL. Regular consumption of a flavanol-rich chocolate can improve oxidant stress in young soccer players. *Clinical & Developmental Immunology* 2005; 12:11-17.

Galleano, M., Oteiza, P. I., & Fraga, C. G. (2009). Cocoa, chocolate and cardiovascular disease. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 54(6), 483.

Gilmore, T. D. (2006). Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, 25(51), 6680-6684.

García, J. C., García, B., Morin, M. A., Céspedes, E. M., Clapes, S., & Etienne, O. (1993). Radicales libres: impacto médico. *BEB (México)*, 13(3), 75-83.

García-Martínez, E.; Ruiz-Díaz, J; Martínez-Monzó, J.; Camacho, M.M.; Martínez-Navarrete, N. & Chiralt, A. (2002). Jam manufacture with osmodehydrated fruit . *Food Research International*, 35, 301-306.

García Molina, O. M. (2013). Efecto de flavonoides sobre un modelo de obesidad en ratones db/db. Proyecto de investigación. Universidad de Murcia. 275p.

Gibson E. 2006 Emotional influences on food choice: Sensory, physiological and psychological pathways *Physiology & Behavior*. 89(1): 53-61.

Gioscia, D. 2014. "Confitería Saludable, Alimentos Funcionales". Departamento de Gestión y Tránsito Tecnológica para el

Desarrollo Local. Laboratorio Tecnológico del Uruguay. 3er Congreso Latinoamericano de Confitería. Mexico.

Gitlin, M. 1994. Psychotropic medications and their effects on sexual function: diagnosis, biology, and treatment approaches. *Journal of Clinical Psychiatry*. 55(9): 406-13.

Gómez, N. F., Alcaide, C., Álvarez, E., Rubio, E. C., & Cambeiro, F. O. (2004). Efectos cardiovasculares y antitrombóticos de los isómeros cis y trans del resveratrol: estudio comparativo. *Actualidad en farmacología y terapéutica*, 2(3), 222-225.

Goth L. 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*. 196:143-152.

Grassi, D., Necozione, S., Lippi, C., Croce, G., Valeri, L., Pasqualetti, P., Desideri, G., Blumberg, J., y Ferri, C. (2005). Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension*, 46(2), 398-405.

Grigoras, A. G. (2017). Catalase immobilization—A review. *Biochemical Engineering Journal*, 117, 1-20.

Gómez G., y Llorca R. 2000. Aminoácidos. *Biopsicología*. 3(4): 548-76.

Gómez-Juaristi, M., González-Torres, L., Bravo, L., Vaquero, M. P., Bastida, S., & Sánchez-Muniz, F. J. (2011). Efectos beneficiosos del

chocolate en la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 26(2), 289-292.

Gómez-Zorita, S., Fernández-Quintela, A., Macarulla, M. T., Aguirre, L., Hijona, E., Bujanda, L., ... & Portillo, M. P. (2012). Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *British Journal of Nutrition*, 107(02), 202-210.

González, G. (2015). Muffins con aceite de girasol alto estearico. Universidad Fasta. Facultad de Ciencia Médicas. Licenciatura en Nutricion. 91p.

Grassi D, Desideri G, Necozione S, Lippi C, Casale R, Properzi G, Blumberg JB, Ferri C. (2008). Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. *Journal of Nutrition*: 138: 1671-1676.

Grassi, D., Necozione, S., Lippi, C., Croce, G., Valeri, L., Pasqualetti, P., ... & Ferri, C. (2005). Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension*, 46(2), 398-405.

Grassi, D., Lippi, C., Necozione, S., Desideri, G., & Ferri, C. (2005). Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood

pressure in healthy persons. *The American journal of clinical nutrition*, 81(3), 611-614.

Green, D. J., Walsh, J. H., Maiorana, A., Best, M. J., Taylor, R. R., & O'Driscoll, J. G. (2003). Exercise-induced improvement in endothelial dysfunction is not mediated by changes in CV risk factors: pooled analysis of diverse patient populations. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 285(6), H2679-H2687.

Gu, Y., Hurst, W. J., Stuart, D. A., & Lambert, J. D. (2011). Inhibition of key digestive enzymes by cocoa extracts and procyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(10), 5305-5311.

Gu, Y., & Lambert, J. D. (2013). Modulation of metabolic syndrome-related inflammation by cocoa. *Molecular nutrition & food research*, 57(6), 948-961.

Gupta, Y. K., Chaudhary, G., & Srivastava, A. K. (2002). Protective effect of resveratrol against pentylenetetrazole-induced seizures and its modulation by an adenosinergic system. *Pharmacology*, 65(3), 170-174.

Gutiérrez-Salmeán, G., Meaney, E., & Ceballos-Reyes, G. (2014). Chocolate y salud cardiometabólica. *Sx Cardiometabólico Diabetes*, 1(4), 163.

Hermann, F., Spieker, L. E., Ruschitzka, F., Sudano, I., Hermann, M., Binggeli, C., Luscher, T., Reisen, W., Noll, G., y Corti, R. (2006). Dark chocolate improves endothelial and platelet function. *Heart*, 92(1), 119-120.

Hermans, M., Coppack, S., & Levy, J. (1995). Comparison of the efficiency of 4 in-vivo insulin sensitivity tests to discriminate between individuals over the range of glucose-tolerance by assessment of their discriminant ratio. *Diabetes* (44): A200.

Heit, C., Marshall, S., Singh, S., Yu, X., Charkoftaki, G., Zhao, H., ... & Vasiliou, V. (2017). Catalase deletion promotes prediabetic phenotype in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 103, 48-56.

Howitz, K. T., Bitterman, K. J., Cohen, H. Y., Lamming, D. W., Lavu, S., Wood, J. G., ... & Scherer, B. (2003). Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 425(6954), 191-196.

Hue, C., Brat, P., Gunata, Z., Samaniego, I., Servent, A., Morel, G., Kapitan, A, Boulanger, R. Y Davrieux, F. (2014). Near Infra-red Characterization of Changes in Flavan-3-ol Derivatives in Cocoa (*Theobroma cacao* L.) as a Function of Fermentation Temperature. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(41), 10136-10142.

Huang YW, Lin Y. 1998. Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38: 421-64.

Hung, C-F., Lung F-W., Chen C-H., O'Nions E., Hung T-H., Chong M-Y, Wu C-K, Wen, Lin P-Y. 2011. Association between suicide attempt and a tri-allelic functional polymorphism in serotonin transporter gene

promoter in Chinese patients with schizophrenia. *Neuroscience Letters*, 504, (3): 242-246

Hurst, W. J., Glinski, J. A., Miller, K. B., Apgar, J., Davey, M. H., & Stuart, D. A. (2008). Survey of the trans-resveratrol and trans-piceid content of cocoa-containing and chocolate products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(18), 8374-8378.

Ibrić, A., & Ćavar, S. (2014). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cocoa and Chocolate Products. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, 42, 37-40.

IDF. Diabetes, Consultado el 28/01/2017. Disponible en: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/es/que-es-la-diabetes>

Imeh, U., & Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6301-6306.

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. (1978). *Tabla de Composición de Alimentos Colombianos*. Ministerio de Salud Pública, Bogotá 4th ed* 95 pp Consultado el 24/01/2017. Disponible en: http://alimentoscolombianos.icbf.gov.co/alimentos_colombianos/consulta_alimento.asp

Inventory-II, D. (2003). Adaptación española del Inventario para la Depresión de Beck-II (BDI-II): 2. Propiedades psicométricas en

población general The spanish adaptation of Beck's. *Clinica y salud*, 14(3), 249-280.

Isomaa, B. O., Almgren, P., Tuomi, T., Forsén, B., Lahti, K., Nissén, M., y Groop, L. (2001). Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes care*, 24(4), 683-689.

Jalil, A. M. M., Ismail, A., Pei, C. P., Hamid, M., & Kamaruddin, S. H. S. (2008). Effects of cocoa extract on glucometabolism, oxidative stress, and antioxidant enzymes in obese-diabetic (Ob-db) rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(17), 7877-7884.

Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W., ... & Moon, R. C. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275(5297), 218-220.

Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73(3), 285-290.

Jimenez A. (2014). Determinación de grasa y ácidos grasos en dos variedades de cacahuete (*arachis hipogaea* l), variedad español y valencia.

Joslin Diabetes Center, ¿Qué es la resistencia a la insulina?. Consultado el 04/01/2017. Disponible en: http://www.joslin.org/LDI/Que_es_la_resistencia_a_la_insulina.html

Kaye, W., Frank, G., Bailer, U., Henry, S., Meltzer, C., Price, J., Mathis, C., and Wagner, A. 2005. Serotonin alterations in anorexia and bulimia nervosa: New insights from imaging studies. *Physiology & Behavior*. 85(1): 73-81.

Keen, C. L. (2001). Chocolate: food as medicine/medicine as food. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(sup5), 436S-439S.

Kim, J., Kim, J., Shim, J., Lee, C. Y., Lee, K. W., & Lee, H. J. (2014). Cocoa phytochemicals: recent advances in molecular mechanisms on health. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(11), 1458-1472.

King, G. L., & Loeken, M. R. (2004). Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochemistry and cell biology*, 122(4), 333-338.

Kris-Etherton, P. M., & Keen, C. L. (2002). Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Current Opinion in Lipidology*, 13(1), 41-49.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*, 25(4), 726-732.

Kurlandsky SB, Stote KS. Cardioprotective effects of chocolate and almond consumption in healthy women. *Nutrition Research* 2006; 26: 509-516.

Laboratorio de Bioquímica Clínica. Universidad de Buenos Aires . Consultado el 24/01/2017. Disponible en <http://www.fmed.uba.ar/depto/bioqhum/TP%20%2014%20Bioquimica%20Clinica-Sangre%20y%20orina.pdf>

Lamuela-Raventós, R. M., Romero-Pérez, A. I., Andrés-Lacueva, C., & Tornero, A. (2005). Review: health effects of cocoa flavonoids. *Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 11(3), 159-176.

Landmesser, U., Spiekermann, S., Dikalov, S., Tatge, H., Wilke, R., Kohler, C., ... & Drexler, H. (2002). Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 106(24), 3073-3078.

Langcake, P., & Pryce, R. J. (1976). The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiological Plant Pathology*, 9(1), 77-86.

Lares, M. (2012). Caracterización del cacao y su manteca durante el beneficio y evaluar el efecto del consumo de chocolate oscuro sobre marcadores de riesgo cardiovascular en una población sana. Trabajo de Ascenso a Asociado, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela.

Lares, M. (2006). Evaluación del perfil de ácidos grasos en la manteca de cacao de Chuao en diferentes etapas del beneficio. Trabajo de ascenso. Facultad de medicina. Escuela de nutrición y dietética. Universidad Central de Venezuela. 90p.

Lares, M; Brito, S; Perez, E; Hernandez, M. (2014). Efecto Antioxidante del Chocolate Oscuro y sobre el Perfil Lipídico en una Población Sana. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín 67(2). 2014 Supl. II

Lares, M., Castro, J., & Obregón, O. (2002). Determinación de la sensibilidad insulínica por el modelo matemático de homeostasis (HOMA). *Salus militiae*, 27(2), 32-34.

Lares, M., Gutiérrez, R., Pérez, E. & Álvarez, C. (2012). Efecto del tostado sobre las propiedades físicas, fisicoquímicas, composición proximal y perfil de ácidos grasos de la manteca de granos de cacao del estado Miranda. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(2), 439-446.

Le Floc'h, N., & Seve, B. (2007). Biological roles of tryptophan and its metabolism: Potential implications for pig feeding. *Livestock Science*, 112(1), 23-32.

Lekli, I., Ray, D., & Das, D. K. (2010). Longevity nutrients resveratrol, wines and grapes. *Genes & nutrition*, 5(1), 55-60.

Lewington, S., Clarke, R., Qizilbash, N., Peto, R., & Collins, R. (2002). Prospective studies collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*, 360(9349), 1903-1913.

Li, H., Wang, X., Li, Y., Li, P., & Wang, H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, 112(2), 454-460.

Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 15(7), 1957-1997.

Macdiarmid, J. I., & Hetherington, M. M. (1995). Mood modulation by food: an exploration of affect and cravings in 'chocolate addicts'. *British Journal of Clinical Psychology*, 34(1), 129-138.

Magliano, D. J., Zimmet, P., & Shaw, J. E. (2015). Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *International Textbook of Diabetes Mellitus, Fourth Edition*, 1-16.

Manual "Bombonería fina artesanal". 2014. Escuela de chocolatería del Alba. Ministerio del poder popular para la Ciencia, Tecnología e innovación. Maracay, Venezuela. p33.

Marcano, Deanna. 2010. La química en los alimentos. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. Fundación Empresas Polar. 350 p.

Marion, M., & Macdiarmid, I. (1993). " Chocolate Addiction": 3 Preliminary Study of its Description and its Relationship to Problem Eating. *Appetite*, 21, 233-246.

Markus, M. A., & Morris, B. J. (2008). Resveratrol in prevention and treatment of common clinical conditions of aging. *Clinical interventions in aging*, 3(2), 331.

Martins, A y Gloria, B. 2010. Changes on the levels of serotonin precursors–tryptophan and 5-hydroxytryptophan–during roasting of Arabica and Robusta coffee. *Food chemistry*. 118(3): 529-533.

Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*, 17(6), 271-278.

Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.

Mathur, S., Devaraj, S., Grundy, S. M., & Jialal, I. (2002). Cocoa products decrease low density lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers of inflammation in humans. *The Journal of nutrition*, 132(12), 3663-3667.

Menchú, M. T., & Méndez, H. (2007). Tabla de composición de alimentos de Centroamérica.

Mensink, R.P. (2005). Effect of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipid* 40:12501 -1205.

Michaelis, M. Drug discovery and neuronal degeneration in Alzheimer`s disease. *Science Medicine* 2003; 9: 214-226.

Morin, L. 1999. Serotonin and the regulation of mammalian circadian rhythmicity. *Annals of medicine*, 31(1): 12-33.

Miller, K. B., Stuart, D. A., Smith, N. L., Lee, C. Y., McHale, N. L., Flanagan, J. A., ... & Hurst, W. J. (2006). Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 4062-4068.

Monnink, S. H., van Haelst, P. L., van Boven, A. J., Stroes, E. S., Tio, R. A., Plokker, T. W., ... & van Gilst, W. H. (2002). Endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease: a comparison of three frequently reported tests. *Journal of investigative medicine*, 50(1), 19-24.

Montuschi, P., Corradi, M., Ciabattini, G., Nightingale, J., Kharitonov, S. A., & Barnes, P. J. (1999). Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 160(1), 216-220.

Moller, S.E., 1992. Serotonin, carbohydrates and atypical depression. *Pharmacology and Toxicology* 71 (suppl 1), 61–71.

Moraes, S., Oldoni, T., Regitano, M., & Alencar, M. (2008). Actividad antioxidante y compuestos fenólicos en infusiones herbarias. *Revista C y TA*, 6, 57-60.

Morselli, E., Maiuri, M. C., Markaki, M., Megalou, E., Pasparaki, A., Palikaras, K., ... & Kroemer, G. (2010). Caloric restriction and resveratrol promote longevity through the Sirtuin-1-dependent induction of autophagy. *Cell death & disease*, 1(1), e10

Mursu, J., Voutilainen, S., Nurmi, T., Rissanen, T. H., Virtanen, J. K., Kaikkonen, J., Nyssonen, K., y Salonen, J. T. (2004). Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(9), 1351-1359.

Nazario, O., Gómez, E. O., Mandujano, Y., & Arevalo, J. (2014). Polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante de granos secos y análisis sensorial del licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo y siete clones. *Revista Investigación y Amazonía*, 3(1), 51-59.

Negre-Salvayre, A., Dousset, N., Ferretti, G., Bacchetti, T., Curatola, G., & Salvayre, R. (2006). Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 41(7), 1031-1040.

Nelson, D. L., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2008). *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan.

Nguyen, N. U., Henriot, M. T., Dumoulin, G., Widmer, A., & Regnard, J. (1994). Increase in calciuria and oxaluria after a single chocolate bar load. *Hormone and metabolic research*, 26(08), 383-386.

Ni, W., Turley, R. B., & Trelease, R. N. (1990). Characterization of a cDNA encoding cottonseed catalase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1049(2), 219-222.

Nishikawa, T., & Araki, E. (2007). Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Antioxidants & redox signaling*, 9(3), 343-353.

Nordberg, J., Arner, E. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Rad Biol Med* 2001; 31: 1287-1312.

Norma ISO 5909:2000. Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids. Association of Official Analytical Chemists A.O.A.C. Method A.O.A.C. 996.06. 2000. Fat (total, saturated, and unsaturated) in foods. In official methods of analysis of AOAC International.

Obregón, O., Castro, J., & Lares, M. (2004). Evaluación y comparación de la sensibilidad insulínica por dos modelos matemáticos: Homeostasis Model Assessment (HOMA) y Quantitative Insulin-Sensitivity Check Index (QUICKI). *Revista Facultad de Medicina. (Caracas)*, 27(1), 54-57.

Oida, K., Ebata, K., Kanehara, H., Suzuki, J., & Miyamori, I. (2003). Effect of cilostazol on impaired vasodilatory response of the brachial artery to ischemia in smokers. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 10(2), 93-98.

Organización mundial de la salud. 2007. Prevention of Cardiovascular Disease. Guidelines for assessment and management of total cardiovascular risk. Ginebra.

Othman, A., Ismail, A., Ghani, N. A., & Adenan, I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*, 100(4), 1523-1530.

Ou, H. C., Chou, F. P., Sheen, H. M., Lin, T. M., Yang, C. H., & Sheu, W. H. H. (2006). Resveratrol, a polyphenolic compound in red wine, protects against oxidized LDL-induced cytotoxicity in endothelial cells. *Clinica chimica acta*, 364(1), 196-204.

Öztürk, D. L., Bülbül, M., Elmastaş, M., & Çiftçi, M. (2007). Purification and some kinetic properties of catalase from parsley (*Petroselinum hortense Hoffm.*, Apiaceae) leaves. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 37(3), 229-238.

Padilla, F. C., Rincón, A. M., & Bou-Rached, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 58(3), 303.

Paixão, N., Perestrelo, R., Marques, J. C., & Câmara, J. S. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry*, 105(1), 204-214.

Pala, V., Krogh, V., Muti, P., Chajès, V., Riboli, E., Micheli, A., y Berrino, F. (2001). Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer: a prospective Italian study. *Journal of the National Cancer Institute*, 93(14), 1088-1095.

Palacios, A., Duran, M., Obregon, O. (2012). Factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo II y síndrome metabólico. *Revista Venezolana de Endocrinología Metabólica* 10 (1): 34-40.

Paredes Carreras, M. D. (2015). Efecto de los flavonoides sobre la función endotelial en ratas con hipertensión arterial. Proyecto de investigación. Universidad de Murcia. 276p.

Paredes S., Terrón M., Cubero J., Valero V., Barriga C., Reiter R., Rodríguez A. (2007). Tryptophan increases nocturnal rest and affects melatonin and serotonin serum levels in old ringdove. *Physiology & Behavior*. 90(4): 576-582.

Parker, G., Parker, I., & Brotchie, H. (2006). Mood state effects of chocolate. *Journal of affective disorders*, 92(2), 149-159.

Passos, C. P., Cardoso, S. M., Domingues, M. R. M., Domingues, P., Silva, C. M., & Coimbra, M. A. (2007). Evidence for galloylated type-A procyanidins in grape seeds. *Food chemistry*, 105(4), 1457-1467.

Pasternak RC. Report of the Adult Treatment Panel III: the 2001 National Cholesterol Education Program guidelines on the detection, evaluation and treatment of elevated cholesterol in adults. (2003). *Cardiology Clinics*. Aug; 21(3):393-8.

Perea, J., Ramírez, O., y Villamizar, A. (2011). Physicochemical characterization of regional materials of cocoa colombian. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(1), 35-42.

Perea-Villamil, J. A., Cadena-Cala, T., & Herrera-Ardila, J. (2009). El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 41(2), 128-134.

Pérez, E., Guzmán, R. 2012. *Tecnología de Cacao. Manual de laboratorio*. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 202p.

Pérez, E., Álvarez, C., & Lares, M. (2002). Caracterización Física y Química de Granos de Cacao Fermentados, Secos y Tostados de la Región del Chuao. *Agronomía Tropical*, 52(2), 161-172.

Pietta, P. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 2000; 63: 1035-1042.

Pinheiro. 2016a. Creatinina y urea. Consultado el 04/01/2017. Disponible en: www.mdsau.de.com/es/2015/10/creatinina-y-urea.html

Pinheiro. 2016b. Que es y como bajar los trigliceridos. Consultado el 04/01/2017. Disponible en: <http://www.mdsaude.com/es/2015/10/trigliceridos.html>

Pinheiro. 2016c. Colesterol HDL, LDL y trigliceridos. Consultado el 04/01/2017. Disponible en: <http://www.mdsaude.com/es/2015/12/colesterol.html>

Pita S. (2001 última actualización). Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. A Coruña. Pita Fernández, S. Epidemiología. Conceptos básicos. En: Tratado de Epidemiología Clínica. Madrid; DuPont Pharma, S.A.; Unidad de epidemiología Clínica, Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad de Alicante: 1995. p. 25-47.

Porter, L. J., Hrstich, L. N., & Chan, B. G. (1985). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25(1), 223-230.

Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, 36(3), 781-784.

Raitakari, M., Ilvonen, T., Ahotupa, M., Lehtimäki, T., Harmoinen, A., Suominen, P., ... & Raitakari, O. T. (2004). Weight reduction with very-low-caloric diet and endothelial function in overweight adults: role of plasma glucose. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 24(1), 124-128.

Ramiro-Puig, E., Casadesús, G., Lee, H. G., Zhu, X., McShea, A., Perry, G., ... & Castell, M. (2009). Neuroprotective effect of cocoa flavonoids on in vitro oxidative stress. *European journal of nutrition*, 48(1), 54-61.

Reaven, G. M. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37(12), 1595-1607.

Rein, D., Lotito, S., Holt, R. R., Keen, C. L., Schmitz, H. H., & Fraga, C. G. (2000). Epicatechin in human plasma: in vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2109S-2114S.

Rein, D., Paglieroni, T. G., Wun, T., Pearson, D. A., Schmitz, H. H., Gosselin, R., & Keen, C. L. (2000). Cocoa inhibits platelet activation and function. *The American journal of clinical nutrition*, 72(1), 30-35.

Riemann, D., Berger, M., y Voderholzer, U. 2001. Sleep and depression—results from psychobiological studies: an overview. *Biological psychology*. 57(1): 67-103.

Ridker, P. M., Brown, N. J., Vaughan, D. E., Harrison, D. G., & Mehta, J. L. (2004). Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation*, 109(25 suppl 1), IV-6.

Rincón-Cardona, J. A., Martini, S., Candal, R. J., & Herrera, M. L. (2013). Polymorphic behavior during isothermal crystallization of high stearic high oleic sunflower oil stearins. *Food research international*, 51(1), 86-97.

Rivera, R. E. C., & Gómez, E. S. O. (2013). Polifenoles Totales, Antocianinas y Capacidad Antioxidante (DPPH y ABTS) durante el procesamiento del licor y polvo de cacao. *ECIPeru: Revista del Encuentro Científico Internacional*, 10(1), 42-50.

Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., & Vergely, C. (2014). Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(9), 2709-2729.

Ros, E. (2015). *Consenso Sobre las Grasas y Aceites en la Alimentación de la Población Española Adulta*. Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD): Madrid, Spain.

Ruddick, J. P., A. K. Evans, D. J. Nutt, S. L. Lightman, G. A. W. Rook, and C. A. Lowry. 2006. Tryptophan metabolism in the central nervous system: Medical implications. *Expert Rev Mol Med*. 8(20): 1-27.

Saad, M. F., Anderson, R. L., Laws, A., Watanabe, R. M., Kades, W. W., Chen, Y. D. I., ... & Bergman, R. N. (1994). A comparison between the minimal model and the glucose clamp in the assessment of insulin sensitivity across the spectrum of glucose tolerance. *Diabetes*, 43(9), 1114-1121.

Salas, J. J., Bootello, M. A., Martínez-Force, E., & Garcés, R. (2011). Production of stearate-rich butters by solvent fractionation of high stearic–high oleic sunflower oil. *Food Chemistry*, 124(2), 450-458.

Salinas des Chanalet, N. J. (2013). Estudio de los parámetros de elaboración de harina de bagazo de uva para la obtención de un

producto con propiedades funcionales. Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas. Universidad de Chile. 65p.

Salinas N., Bolívar W. 2012 Ácidos grasos en chocolates venezolanos y sus análogos. *Anales Venezolanos de Nutrición*; 25(1): 34 – 41

Salonia, A., Fabbri, F., Zanni, G., Scavini, M., Fantini, G. V., Briganti, A., y Montorsi, F. (2006). Original research—women's sexual health: Chocolate and Women's Sexual Health: An Intriguing Correlation. *The journal of sexual medicine*, 3(3), 476-482.

Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J., Saura-Calixto, F. 1998. A procedure to measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76: 270-276.

Santos, M. (2007). Efectos preventivos de quercetina sobre la disfunción endotelial. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, España. 202 p.

Sanz, S. S. (2003). Pruebas de autocontrol en farmacias: riesgos controlados. *Farmacia profesional*, 17(11), 42-48.

Shahidi, F. Antioxidants in foods and food antioxidants. *Nahrung* 2000; 44: 158-163.

Shetty, A. K. (2011). Promise of resveratrol for easing status epilepticus and epilepsy. *Pharmacology & therapeutics*, 131(3), 269-286.

Shohaib, T., Shafique, M., Dhanya, N., & Divakar, M. C. (2011). Importance of flavonoids in therapeutics. *Hygeia Journal of Medicine*, 3(1), 1-18.

Servais, C., Jones, R., Roberts, I. (2002). The influence of particle size distribution on the processing of food. *Journal of Food Engineering* 51, 201–208.

Sesmero, R., Quesada, M. A. & Mercado J. A. (2007). Antisense inhibition of pectate lyase gene expression in strawberry fruit: Characteristics of fruits processed into jam. *Journal of Food Engineering* Volume 79, Issue 1, 194-199p.

Shinozaki, G., Romanowicz, M., Passov, V., Rundell, J., Mrazek, D., Kung S. 2013. State dependent gene–environment interaction: Serotonin transporter gene–child abuse interaction associated with suicide attempt history among depressed psychiatric inpatients *Journal of Affective Disorders*, 147, (1–3): 373-378

Shokunbi, O. S., Fayomi, E. T., Sonuga, O. S., & Tayo, G. O. (2012). Composición en nutrientes de cinco variedades de maní (*Arachis hypogaea* L.) de consumo habitual en Nigeria. *Grasas y aceites*, 63(1), 14-18.

Siegel, G. 1999. Understanding the neuro anatomical organization of serotonergic cells in the brain provides in sight in to the functions of this neurotransmitter. *Basic Neurochemistry*. 6^a Ed: 121-128.

Siemann, E. H., & Creasy, L. L. (1992). Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(1), 49-52.

Simmons, R. Developmental origins of diabetes: The role of oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 2006; 40: 917-922.

Sinclair, K; Mann, N., Turner, A., Abedin, L., y Li, D. 2001. A stearic acid-rich diet improves thrombogenic and atherogenic risk factor profiles in healthy males. *Eur. J. Clin. Nut.* 55: 88 – 96

Sinitsyna, O., Krysanova, Z., Ishchenko, A., & Dikalova, A. E. (2006). Age-associated changes in oxidative damage and the activity of antioxidant enzymes in rats with inherited overgeneration of free radicals. *Journal of cellular and molecular medicine*, 10(1), 206.

Sokmen, A., Gunes, G. (2006). Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate. *LWT – Food Science and Technology* 39, 1053–1058

Sokolov, A. N., Pavlova, M. A., Klosterhalfen, S., & Enck, P. (2013). Chocolate and the brain: Neurobiological impact of cocoa flavanols on cognition and behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2445-2453.

Sotelo, A., Lucas, B., Garza, L., & Giral, F. (1990). Characteristics and fatty acids content of the fat of seeds of nine wild Mexican plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 38(7), 1503-1505.

Souquet, J. M., Cheynier, V., Brossaud, F., & Moutounet, M. (1996). Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry*, 43(2), 509-512.

Steinberg, F. M., Bearden, M. M., & Keen, C. L. (2003). Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(2), 215-223

Stewart, J. Use of Atwater factors in USDA'S nutrient databank. Consultado el 04/05/2015. Disponible en http://www.nutrientdataconf.org/PastConf/NDBC17/9-3_Stewart.pdf.

Sun, Y., Neelakantan, N., Wu, Y., Lote-Oke, R., Pan, A., & van Dam, R. M. (2015). Palm Oil Consumption Increases LDL Cholesterol Compared with Vegetable Oils Low in Saturated Fat in a Meta-Analysis of Clinical Trials. *The Journal of nutrition*, 145(7), 1549-1558.

Tang, P. C. T., Ng, Y. F., Ho, S., Gyda, M., & Chan, S. W. (2014). Resveratrol and cardiovascular health—Promising therapeutic or hopeless illusion. *Pharmacological Research*, 90, 88-115.

Taubert D, Berkels R, Roesen R, Klauss W. Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension. *JAMA* 2003; 290: 1029-1030.

Técnica de Elisa. Consultado el 04/01/2017. Disponible en: <http://medmol.es/tecnicas/28/>

Touyz, R. M. (2004). Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension. *Hypertension*, 44(3), 248-252.

Ulker, S., McMaster, D., McKeown, P.P., Bayraktutan, U., 2003. Impaired activities of antioxidant enzymes elicit endothelial dysfunction in spontaneous hypertensive rats despite enhanced vascular nitric oxide generation. *Cardiovasc. Res.* 59, 488–500.

University of Maryland Medical Center. Coronary risk profile. Consultado el 12/01/2017. Disponible en: <http://umm.edu/health/medical/ency/articles/coronary-risk-profile>.

Urpi-Sarda, M., Zamora-Ros, R., Lamuela-Raventos, R., Cherubini, A., Jauregui, O., De la Torre, R., Covas MI, Estruch R, Jaeger W, y Andres-Lacueva, C. (2007). HPLC–tandem mass spectrometric method to characterize resveratrol metabolism in humans. *Clinical chemistry*, 53(2), 292-299.

Vacchiano, C. A., & Tempel, G. E. (1994). Role of nonenzymatically generated prostanoid, 8-iso-PGF₂ alpha, in pulmonary oxygen toxicity. *Journal of Applied Physiology*, 77(6), 2912-2917.

Valenzano, D. R., Terzibasi, E., Genade, T., Cattaneo, A., Domenici, L., & Cellerino, A. (2006). Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Current Biology*, 16(3), 296-300.

Valenzuela, A. (2007). El chocolate, un placer saludable. *Revista chilena de nutrición*, 34(3), 180-190.

Valenzuela, A., Sanhueza, J., & Nieto, S. (2003). Natural antioxidants in functional foods: from food safety to health benefits. *Grasas y aceites*, 54(3), 295-303.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.

Vásquez, A.; Cala, M.; Miranda, I.; Tafurt, G.; Martínez, J.; y Stashenko, E. (2007). Actividad Antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia sochensis*, *Bidensreptonsy Montanoaovalifolia*. *Scientia et Technica* 33: 205-207.

Vázquez-Ovando, A., Molina-Freaner, F., Nuñez-Farfán, J., Betancur-Ancona, D., & Salvador-Figueroa, M. (2015). Classification of cacao beans (*Theobroma cacao* L.) of southern Mexico based on chemometric analysis with multivariate approach. *European Food Research and Technology*, 240(6), 1117-1128.

Vidal, G., & Bornhardt, C. (1991). La actividad del agua en los alimentos. *Alimentación, equipos y tecnología*, 10(7), 159-164.

Vinson, J. A., Proch, J., & Zubik, L. (1999). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: cocoa, dark chocolate, and milk chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 4821-4824.

Vinson, J. A., Proch, J., Bose, P., Muchler, S., Taffera, P., Shuta, D., ... & Agbor, G. A. (2006). Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an antiatherosclerotic agent in an animal model, and a significant contributor to antioxidants in the European and American diets. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(21), 8071-8076.

Wan, Y., Vinson, J. A., Etherton, T. D., Proch, J., Lazarus, S. A., & Kris-Etherton, P. M. (2001). Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 74(5), 596-602.

Wang, J. F., Schramm, D. D., Holt, R. R., Ensunsa, J. L., Fraga, C. G., Schmitz, H. H., & Keen, C. L. (2000). A dose-response effect from chocolate consumption on plasma epicatechin and oxidative damage. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2115S-2119S.

Wang, Z., Ciabattini, G., Creminon, C., Lawson, J., Fitzgerald, G. A., Patrono, C., & Maclouf, J. (1995). Immunological characterization of urinary 8-epi-prostaglandin F2 alpha excretion in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275(1), 94-100.

Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffery, L. E., & Elías, L. G. (1992). *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*. IDRC.

Wang, J. F., Schramm, D. D., Holt, R. R., Ensunsa, J. L., Fraga, C. G., Schmitz, H. H., & Keen, C. L. (2000). A dose-response effect from chocolate consumption on plasma epicatechin and oxidative damage. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2115S-2119S.

Wenzel, E., & Somoza, V. (2005). Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Molecular nutrition & food research*, 49(5), 472-481.

Whitefield, R., (2005). *Making Chocolates in the Factory*. Kennedy's Publications Ltd., London, UK.

William H. Kruskal and W. Allen Wallis. Use of ranks in one-criterion variance analysis. 1952. *Journal of the American Statistical Association* 47 (260): 583–621.

Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.

Wu, Z., Xu, Q., Zhang, L., Kong, D., Ma, R., & Wang, L. (2009). Protective effect of resveratrol against kainate-induced temporal lobe epilepsy in rats. *Neurochemical research*, 34(8), 1393-1400.

Wurtman, R.J., Wurtman, J.J., (1989). Carbohydrates and depression. *Scientific American* 260, 68–75.

Yildiz, A., Oflaz, H., Pusuroglu, H., Mercanoglu, F., Genchallac, H., Akkaya, V., ... & Sever, M. S. (2003). Left ventricular hypertrophy and

endothelial dysfunction in chronic hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases*, 41(3), 616-623.

Yamaguchi, J., Nishimura, M., & Akazawa, T. (1986). Purification and characterization of heme-containing low-activity form of catalase from greening pumpkin cotyledons. *European journal of biochemistry*, 159(2), 315-322.

Yu, S., Derr, J., Etherton, T., Kris-Etherton, P. Plasma cholesterol predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1995; 61: 1129-1139.

14. ANEXOS

ANEXO A. Formato planilla para evaluación sensorial de chocolate con dos formulaciones diferentes.

NOMBRE: _____ EDAD: _____ FECHA: _____

INSTRUCCIONES

A continuación se le entregan dos (2) tabletas de chocolate con el fin de que Ud. evalúe su grado de gusto o disgusto con respecto a algunos atributos en base a la escala hedónica descrita más abajo.

Tome la primera muestra obsérvela detenidamente fijándose detalladamente en su aspecto y color, a continuación acerque la muestra a su nariz para determinar el grado de agrado en cuanto a olor se refiere.

Para evaluar textura y sabor deguste la muestra y posteriormente de una aceptación global de la misma. **NO OLVIDE** responder las preguntas que se encuentran al finalizar y **BEBER UN POCO DE AGUA ENTRE MUESTRA Y MUESTRA**. En el espacio correspondiente a cada atributo y muestra coloque el número que exprese lo que Ud. siente por el producto presentado.

- 9.- Me gusta extremadamente
- 8.- Me gusta mucho
- 7.- Me gusta moderadamente
- 6.- Me gusta poco
- 5.- Me es indiferente
- 4.- Me disgusta
- 3.- Me disgusta moderadamente
- 2.- Me disgusta mucho
- 1.- Me disgusta extremadamente

Código	Aspecto	Color	Olor	Textura	Sabor	Aceptación Global

*Las muestras presentan sabor residual? SI ___NO___ Cual?_____ Sabor residual a: _____

*Sintió Ud. Granulosidad en las muestras? SI _____ NO _____ En que muestra? _____
En qué grado? _____.

Comentarios: _____.

Muchas gracias por su participación!

ANEXO B. Formato planilla para evaluación sensorial para tableta de chocolate final.

NOMBRE: _____ EDAD: _____ FECHA: _____

INSTRUCCIONES

A continuación se le entrega una (1) tabletas de chocolate con el fin de que Ud. evalúe su grado de gusto o disgusto con respecto a algunos atributos en base a la escala hedónica descrita más abajo.

Tome la primera muestra obsérvela detenidamente fijándose detalladamente en su aspecto y color, a continuación acerque la muestra a su nariz para determinar el grado de agrado o desagrado en cuanto a olor se refiere.

Para evaluar textura y sabor deguste la muestra y posteriormente de una aceptación global de la misma. NO OLVIDE responder las preguntas que se encuentran al finalizar; en el espacio correspondiente a cada atributo y muestra coloque el número que exprese lo que Ud. siente por el producto presentado.

- 9.- Me gusta extremadamente
- 8.- Me gusta mucho
- 7.- Me gusta moderadamente
- 6.- Me gusta poco
- 5.- Me es indiferente
- 4.- Me disgusta
- 3.- Me disgusta moderadamente
- 2.- Me disgusta mucho
- 1.- Me disgusta extremadamente

Código	Aspecto	Color	Olor	Textura	Sabor	Aceptación Global

*La muestra presenta sabor residual? SI ___NO___ Cual?_____ Sabor residual a: _____

*Sintió Ud. Granulosidad en las muestras? SI _____ NO _____ En qué grado? _____

Comentarios _____.

Gracias!

ANEXO C. Consentimiento escrito de aceptación de protocolo de estudio

**REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
HOSPITAL MILITAR DR. CARLOS ARVELO
DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGIA Y ENFERMEDADES
METABOLICAS**

**CONSENTIMIENTO ESCRITO DE ACEPTACIÓN DE
PROTOCOLO DE ESTUDIO**

Título: "ESTUDIO DE INTERVENCIÓN SOBRE ESTADO ANÍMICO Y MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN UNA POBLACIÓN SANA QUE CONSUME CHOCOLATE ENRIQUECIDO CON TRIPTÓFANO Y RESVERATROL"

Investigador responsable: *Jennyfer Flórez Méndez*

INTRODUCCIÓN: Antes de que usted decida tomar parte en este estudio de investigación, es importante que lea cuidadosamente este documento. El investigador discutirá con usted el contenido de este informe y le explicará todos aquellos puntos en los que tenga duda. Si después de haber leído toda la información usted decide participar en este estudio, deberá firmar este consentimiento indicando la fecha de la firma. Usted recibirá una copia de este consentimiento informado.

OBJETIVO DEL ESTUDIO: A usted se le ha pedido que participe en un estudio de investigación con pruebas bioquímicas (de laboratorio) que se encuentra en algunos laboratorios venezolanos y que potencialmente podrían tener acciones benéficas sobre su estado de ánimo y enfermedades cardíacas.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR: Usted será evaluado mediante el inventario para la depresión de Beck (Beck Depression Inventory: BDI) con el fin de conocer su estado de ánimo, posteriormente se le harán mediciones de peso, presión arterial y frecuencia cardíaca,

Se extraerá muestra de sangre para determinar Colesterol, Triglicéridos, HDL, LDL antes y después de 15 g consumo de chocolate enriquecido con triptofano y resveratrol.

GARANTÍA DE CONFIDENCIALIDAD: Solo el investigador tendrá acceso a los datos confidenciales que lo identifican a usted por su

nombre. Su identificación no aparecerá en ningún informe ni publicación, resultante del presente estudio.

PARTICIPACION VOLUNTARIA: Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede negarse a participar, o puede interrumpir su participación en cualquier momento durante el estudio, sin perjuicio alguno ni pérdida de sus derechos.

CONSENTIMIENTO: He leído y entendido perfectamente este consentimiento informado. He recibido respuestas satisfactorias y convincentes a todas mis preguntas. Acepto voluntariamente participar en este estudio. Al firmar esta fórmula no estoy renunciando a mis derechos legales que de todas maneras tengo como participante de un estudio de investigación.

Nombre del sujeto C.I _____

Firma _____ Fecha _____

Nombre del sujeto C.I _____

Firma _____ Fecha _____

Nombre del sujeto C.I _____

Firma _____ Fecha _____

**ANEXO D. Aprobación del comité de Ética del Hospital Militar
“Carlos Arvelo”**

**REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA LA DEFENSA
VICEMINISTERIO DE SERVICIOS, PERSONAL Y LOGISTICA
DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD DE LA FANB
HOSPITAL MILITAR “DR. CARLOS ARVELO”
COMITÉ DE ETICA**

APROBACION DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN

TITULO DEL ESTUDIO:

“Estudio de intervención sobre estado anímico y marcadores de estrés oxidativo en una población sana que consume chocolate enriquecido con Triptófano y Resveratrol”.

El Comité de Ética del Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”, luego de analizar el proyecto de Tesis Doctoral (Trabajo de Grado), y de acuerdo a los Principios Internacionales y de Buena Práctica Clínica y las regulaciones locales, resuelve autorizar el Trabajo de Grado solicitado por la(s) ciudadana(s) **Jennyfer Yelitza C. Flórez Méndez, CI.: E- 84.580.650**, cursante del **Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos** para optar al Título de **Doctora** en la **Universidad Central de Venezuela**.

Firma: _____ **Fecha:** __07 04 2016__

Nombre: Cnel. Dr. Alfonso Rodolfo Mata _____

Cargo: Presidente del Comité de Etica _____

Institucion: Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo” _____

Direccion de la Institucion: Av. José Ángel Lamas, San Martín, Caracas, Venezuela.

Lista de los Miembros del Comité de Ética:

Nombre	Profesión	Cargo en el C.E
Cnel. Dr. Alfonso Rodulfo Mata	Pediatra-Inmunólogo Toxicólogo Clínico	Presidente
TCnel. (Ret.) Dr. Pedro Luís Márquez	Médico Internista Lic. Filosofía	Miembro
CF. Dr. José Lisandro Pabón Dávila	Médico Psiquiatra M.Sc. Farmacología	Miembro
TCnel. Dr. Ramón Manzano	Traumatólogo	Miembro
May. Arelis Suárez	Farmacéutico Hospitalario	Miembro
Lic. Carline García	Nutricionista Clínica Bioeticista	Miembro Secretaria
Dr. Joao De Sousa	Cirujano General	Miembro
Abg. Douglas Aldana	Abogado	Miembro
Lic. Nelva Orozco	Lic. Enfermería	Miembro

ANEXO E. Planilla para el cumplimiento de la dieta.

Estimado Voluntario:

A continuación se le realizarán una serie de recomendaciones con el fin de asegurar el éxito del “*ESTUDIO DE INTERVENCIÓN SOBRE ESTADO ANÍMICO Y MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN UNA POBLACIÓN SANA QUE CONSUME CHOCOLATE ENRIQUECIDO CON TRIPTÓFANO Y RESVERATROL*”.

1. Durante los 30 días de duración del estudio, debe **abstenerse** de consumir alimentos cuyo contenido pudiera interferir con los análisis, estos alimentos son:
 - Vino tinto, Maní o frutos secos
 - Garbanzo, Remolacha o alimentos de color morado intenso, Frutos silvestres (fresas, ciruelas, Uvas).
 - Chocolate y sus derivados
 - Té verde y/o negro

2. Debe venir en **ayunas de 14 horas** cuando así se le requiera, **justo antes** de comenzar a consumir la tableta de chocolate enriquecida con Triptófano y Resveratrol (**Día cero**) y **luego de concluido** el lapso de consumo (**Día 21**).

3. **No** debe consumir **bebidas alcohólicas**.

4. El chocolate debe ser consumido en forma diaria (**1 tableta de 15 gramos/día**), para tal efecto se le entregarán las tabletas de chocolate pesadas de modo tal que consuma una diaria. Pueden ser consumidas como merienda.

5. **Sea honesto** con el equipo investigador ante cualquier pregunta o requerimiento que se le haga referente a la ingesta de comida durante los 21 días de duración del protocolo.

6. Si dado el caso Ud. Llega a incumplir alguna de las normativas anteriormente expuestas por favor **hágalo saber** al equipo de investigadores.

De ante mano el equipo de investigadores agradece su amplia colaboración como participante de este proyecto!

ANEXO F: Inventario para la Depresión de Beck (Beck Depression Inventory: BDI), Fuente: (Beck y col, 1961).

Nombre: _____. Edad: _____. Fecha: _____.

Instrucciones: Este cuestionario está formado por 21 grupos de frases. Por favor, lea cada grupo con atención, y elija la frase de cada grupo que mejor describa cómo se ha sentido durante las últimas dos semanas, incluido el día de hoy. Marque con una X la casilla que está a la izquierda de la frase que ha elegido como respuesta a cada una de las afirmaciones del enunciado. Si dentro de un mismo grupo hay más de una frase que considere aplicable a su caso, rodee aquella que haya tenido una mayor frecuencia en las dos últimas semanas.

1) Tristeza

- No me siento triste
- Me siento triste la mayor parte del tiempo
- Estoy triste todo el tiempo
- Me siento tan triste o desgraciado/a que no puedo soportarlo

2) Pesimismo

- No estoy desanimado/a respecto a mi futuro
- Me siento más desanimado/a respecto a mi futuro que de costumbre
- No espero que las cosas se resuelvan
- Siento que mi futuro no tiene esperanza y que sólo irá a peor

3) Fracaso pasado

- No me siento fracasado/a
- He fracasado más de lo que debería
- Cuando miro hacia atrás, veo muchos fracasos
- Creo que soy un fracaso total como persona

4) Pérdida de placer

- Disfruto tanto como antes de las cosas que me gustan
- No disfruto de las cosas tanto como acostumbraba
- Disfruto muy poco con las cosas que me gustaban
- No disfruto nada con las cosas que me gustaban

5) Sentimientos de culpabilidad

- No me siento especialmente culpable
- Me siento culpable de muchas cosas que he hecho o debería haber hecho
- Me siento bastante culpable la mayor parte del tiempo
- Me siento culpable siempre

6) Sentimientos de castigo

- No creo que esté siendo castigado/a
- Creo que puedo ser castigado/a
- Espero ser castigado/a
- Creo que estoy siendo castigado/a

7) Desagrado hacia uno mismo/a

- Tengo la misma opinión sobre mí que de costumbre
- He perdido la confianza en mí mismo/a
- Me siento decepcionado conmigo mismo
- No me gusto a mí mismo/a

8) Autocrítica

- No me critico o culpo más que de costumbre
- Soy más crítico/a conmigo mismo/a que de costumbre
- Me critico por todas mis faltas
- Me culpo por todo lo malo que sucede

9) Pensamientos o deseos de suicidio

- No pienso en suicidarme
- Pienso en suicidarme, pero no lo haría
- Desearía suicidarme
- Me suicidaría si tuviese oportunidad

10) Llanto

- No lloro más que de costumbre
- Lloro más que de costumbre
- Lloro por cualquier cosa
- Tengo ganas de llorar pero no puedo

11) Agitación

- No estoy más intranquilo/a o nervioso/a que de costumbre
- Me siento más intranquilo/a o nervioso/a que de costumbre

Estoy tan intranquilo/a o agitado/a que me es difícil estar quieto/a

Estoy tan intranquilo/a o agitado/a que tengo que estar continuamente moviéndome o haciendo algo

12) Pérdida de interés

No he perdido el interés por los demás o por las cosas

Estoy menos interesado/a por los demás o por las cosas que antes

He perdido la mayor parte de mi interés por los demás o por las cosas

Me resulta difícil interesarme por alguna cosa

13) Indecisión

Tomo decisiones casi tan bien como siempre

Me resulta más difícil tomar decisiones que de costumbre

Me resulta mucho más difícil tomar decisiones que de costumbre

Tengo dificultades para tomar cualquier decisión

14) Sentimientos de inutilidad

No creo que yo sea inútil

No me considero tan valioso y útil como de costumbre

Me siento más inútil en comparación con otras personas

Me siento completamente inútil

15) Pérdida de energía

Tengo tanta energía como siempre

Tengo menos energía que de costumbre

No tengo suficiente energía para hacer muchas cosas

No tengo suficiente energía para hacer nada

16) Cambios en el sueño

No he notado ningún cambio en mi sueño

Duermo algo más que de costumbre

Duermo algo menos que de costumbre

Duermo mucho más que de costumbre

Duermo mucho menos que de costumbre

Duermo la mayor parte del día

Me despierto 1-2 horas antes y no puedo volver a dormirme

17) Irritabilidad

- No estoy más irritable que de costumbre
- Estoy más irritable que de costumbre
- Estoy mucho más irritable que de costumbre
- Estoy irritable todo el tiempo

18) Cambios en el apetito

- No he notado ningún cambio en mi apetito
- Mi apetito es algo menor que de costumbre
- Mi apetito es algo mayor que de costumbre
- Mi apetito es mucho menor que antes
- Mi apetito es mucho mayor que de costumbre
- No tengo nada de apetito
- Tengo un ansia constante de comer

19) Dificultades de concentración

- Puedo concentrarme tan bien como siempre
- No me puedo concentrar tan bien como de costumbre
- Me cuesta concentrarme en algo durante mucho rato
- No me puedo concentrar en nada

20) Cansancio o fatiga

- No estoy más cansado/a o fatigado/a que de costumbre
- Me canso o me siento fatigado/a más fácilmente que de costumbre
- Estoy demasiado cansado/a o fatigado/a para hacer muchas de las cosas que solía hacer
- Estoy demasiado cansado/a o fatigado/a para hacer la mayoría de las cosas que solía hacer

21) Pérdida de interés por el sexo

- No he observado ningún cambio reciente en mi interés por el sexo
- Estoy menos interesado/a en el sexo que de costumbre
- Estoy mucho menos interesado/a en el sexo ahora
- He perdido totalmente el interés por el sexo

ANEXO G. Resultados obtenidos en cuanto a mediciones de peso, cintura, cadera y presión arterial para cada uno de los pacientes antes y después del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol.

Paciente	DIA CERO				DIA 21			
	Peso(Kg)	Cintura (cm)	Cadera (Cm)	PªA	Peso(Kg)	Cintura (cm)	Cadera (Cm)	PªA
1	73	75,5	103	120/80	70,5	74	101	110/70
2	61,8	81	81	110/70	61	81	81	110/70
3	54,7	68,5	83	110/70	54,7	68,5	83	110/70
4	44,5	66,5	77,7	100/70	44,7	66,5	77,5	120/70
5	58,9	68	89,5	100/60	59,2	68,5	89	100/80
6	48,9	64	78	100/80	49,1	64	78	110/60
7	66,7	81,5	90	94/70	66	81	90	120/80
8	62,3	75	96	120/70	62,6	75	96	120/70
9	67	75	94,5	115/69	67,3	75	94,5	110/70
10	61,1	74	83,4	120/80	60,7	74	83	110/70

ANEXO H. Resultados IMC global obtenidos.

PACIENTES	ESTATURA	PESO DIA 0	IMC DIA 0	PESO DIA 21	IMC DIA 21
1	1,75	73	23,83	70,5	23,02
2	1,74	61,8	20,41	61	20,14
3	1,63	54,7	20,58	54,7	20,58
4	1,5	44,5	19,77	44,7	19,86
5	1,61	58,9	22,72	59,2	22,83
6	1,55	48,9	20,35	49,1	20,43
7	1,74	66,7	22,03	66	21,79
8	1,58	62,3	24,95	62,6	25,07
9	1,69	67	23,45	67,3	23,56
10	1,68	61,1	21,64	61	21,61

ANEXO I. Registro de consumo de alimentos por frecuencia de consumo, antes y después del consumo de chocolate enriquecido con triptófano y resveratrol.

Franja Amarilla (granos, cereales, tubérculos y plátano)										
Alimentos	Muy Frecuente		Frecuente		Poco Frecuente		Ocasional		Nunca	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Granos										
Granos varios	0	0	3	15	16	80	1		0	0
Cereales										
Pan Blanco	5	25	7	35	7	35	0	0	1	5
Pan Integral	2	10	2	10	6	30	6	30	4	20
Harina de maíz	9	45	6	30	5	25	0	0	0	0
Arroz	6	30	5	25	8	40	1	5	0	0
Pasta	1	5	5	25	13	65	1	5	0	0
Cereales	2	10	5	25	12	60	1	5	0	0
Galletas	2	10	4	20	14	70	0	0	0	0
Tubérculos										
Verduras	3	15	4	20	12	60	1	5	0	0
Papa	2	10	6	30	12	60	0	0	0	0
Plátano										

Plátano	1	5	8	40	11	55	0	0	0	0
---------	---	---	---	----	----	----	---	---	---	---

Franja Verde (Hortalizas y frutas)										
Alimentos	Muy Frecuente		Frecuente		Poco Frecuente		Ocasional		Nunca	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Hortalizas										
Ensaladas	2	10	8	40	9	45	1	5	0	0
Frutas										
Jugos naturales	3	15	9	45	7	35	1	5	0	0
Enteras o trozos	0	0	6	30	14	70	0	0	0	0
Franja Azul (Lácteos, carnes y huevos)										
Alimentos	Muy Frecuente		Frecuente		Poco Frecuente		Ocasional		Nunca	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Lácteos y derivados										
Leche Entera	0	0	1	5	13	65	4	20	2	10
Leche descremada	0	0	0	0	8	40	3	15	9	45
Quesos Blancos	9	45	10	50	1	5	0	0	0	0
Quesos amarillos	1	5	1	5	11	55	5	25	2	10
Yogurt	1	5	5	25	11	55	2	10	1	5
Carnes										
Carne de pollo con piel	3	15	4	20	4	20	0	0	9	45

Carne de pollo sin piel	4	20	11	55	5	25	0	0	0	0
Carne de res	3	15	6	30	10	50	1	5	0	0
Carne de cerdo	1	5	0	0	15	75	2	10	2	10
Pescados	0	0	2	10	17	85	1	5	0	0
Embutidos	1	5	0	0	16	80	3	15	0	0
Enlatados	1	5	0	0	17	85	1	5	1	5
Vísceras	0	0	0	0	3	15	4	20	13	65
Huevos										
Huevos	3	15	3	15	14	70	0	0	0	0
Franja Naranja (grasas y aceites vegetales)										
Alimentos	Muy Frecuente		Frecuente		Poco Frecuente		Ocasional		Nunca	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Grasas										
Mantequilla	4	20	4	20	8	40	3	15	1	5
Margarina	2	10	3	15	11	55	1	5	3	15
Aceite oliva	0	0	1	5	3	15	6	30	10	50
Aceites varios	4	20	8	10	6	30	2	10	0	0
Tocineta	0	0	1	5	11	55	3	15	5	25
Chicharrón	0	0	0	0	5	25	4	20	11	55
Mayonesa	0	0	0	0	13	65	3	15	4	20
Franja Morada (Azúcares y papelón)										

Alimentos	Muy Frecuente		Frecuente		Poco Frecuente		Ocasional		Nunca	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Azúcares y alimentos preparados										
Café	8	40	5	25	3	15	2	10	2	10
Chucherías saladas	0	0	4	20	12	60	2	10	2	10
Helados de crema	0	0	0	0	15	75	5	25	0	0
Gelatina	0	0	0	0	12	60	7	35	1	5
Chocolates	3	15	6	30	8	40	3	15	0	0
Maltas	0	0	1	5	9	45	3	15	7	35
Bebidas de sobre	0	0	2	10	6	30	9	45	3	15
Bebidas gaseosas	1	5	2	10	13	65	4	20	0	0
Bebidas envasadas (cartón o botella)	0	0	3	15	10	50	6	30	1	5
Bebidas alcohólicas	0	0	1	5	10	50	5	25	4	20
Hamburguesas	0	0	0	0	9	45	8	40	3	15
Perros calientes	0	0	0	0	9	45	6	30	5	25
Pizza	0	0	0	0	12	60	6	30	2	10
Golosinas	1	5	4	20	13	65	1	5	1	5

ANEXO J. Resultados globales parámetros bioquímicos, Parte A.

P	GL (mg/dl)		CR (mg/dl)		TR (mg/dl)		CT (mg/dl)		HDL (mg/dl)	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
1	73	72	0,6	0,7	119	89	120	84	34	38
2	74	84	0,8	0,6	128	88	136	134	36	36
3	76	76	0,5	0,5	59	98	115	116	38	36
4	69	73	0,5	0,6	106	116	158	124	37	41
5	88	81	0,7	0,7	116	78	141	97	39	43
6	73	76	0,7	0,5	117	120	146	110	40	35
7	81	84	0,8	0,5	146	136	156	184	48	45
8	66	78	0,6	0,5	79	88	148	126	43	38
9	71	83	0,7	0,6	146	126	163	151	39	44
10	70	71	0,6	0,5	139	128	156	146	46	43

Leyenda: P: paciente; GL: Glicemia; CR: creatinina; TR: triglicéridos; CT: colesterol total; HDL: colesterol H.D.L.

A= Antes DIA CERO

D= Después DIA 21

ANEXO K. Resultados globales parámetros bioquímicos, Parte B.

P	LDL (mg/dl)		VLDL (mg/dl)		ACU (mg/dl)		IN (mg/dl)	
	A	D	A	D	A	D	A	D
1	62,2	28,2	24	16,8	4,6	3,9	5,5	3
2	74,4	80,4	27,2	26,8	4,1	3,6	10,1	4
3	65,2	60,4	23	23,2	3,6	4	12,4	6
4	99,8	59,8	31,6	24,8	3,6	4,1	10,6	2
5	78,8	38,4	28,2	19,4	4,5	4,5	6,9	6
6	82,6	51	29,2	22	4,8	4,2	4	3
7	78,8	111,8	31,2	36,8	3,9	5,1	6,3	4
8	89,2	70,4	29,6	25,2	3,8	3,5	4,4	6
9	94,8	81,8	32,6	30,2	3,8	3,9	7,1	7
10	82,2	77,4	31,2	29,2	4,6	4,1	3,3	3

Leyenda: P: paciente; LDL: colesterol L.D.L.; VLDL: colesterol V.L.D.L.; ACU: ácido úrico; IN: insulina.

A: Antes DIA CERO

D: Después DIA 21

ANEXO L. Resultados marcador de estrés oxidativo 8 – isoprostano (8- iso PGF₂α) en pacientes sanos a los cuales se dios a consumir diariamente 15 g de una tableta enriquecida con triptófano y Resveratrol durante 21 días.

PACIENTE	DÍA 0	DÍA 21
1	78,8	38,97
2	235,97	128,4
3	49,1	23,07
4	148,37	136,07
5	100,1	32,6
6	156,33	90,73
7	160,7	133,13
8	88,57	62,43
9	172,2	110,83
10	93	70,4

ANEXO M. Resultados Catalasa en pacientes sanos a los cuales se dios a consumir diariamente 15 g de una tableta enriquecida con triptófano y resveratrol durante 21 días.

Voluntario sano	Catalasa Basal (kU/L)	Catalasa Post-dieta (kU/L)	Incremento (%)
1	78,55	108	23,14
2	47,25	54	3,19
3	50,63	110	30,06
4	66,89	102,38	23,74
5	111,12	129	19,87
6	109,29	228,27	130,04
7	88,71	109,42	18,37
8	94,15	107,25	12,33
9	61,2	82,13	12,81
10	68,14	99	21,03

Leyenda: Basal: Día Cero; Post-dieta: Día 21

ANEXO N. Resultados globales test Beck.

Paciente	PUNTAJE OBTENIDO	
	ANTES	DESPUES
1	6	0
2	12	11
3	2	5
4	3	1
5	8	4
6	0	0
7	4	0
8	5	2
9	3	2
10	2	0