

Determinación de la respuesta glucémica en ratones experimentales entre tres tipos de chocolate

Determination of the glycemic response in experimental mice amidst three types of chocolate

Coto Hernández, Elizabeth Monserrath; Mejía Valencia, José Guillermo

Elizabeth Monserrath Coto Hernández
Centro de Investigación y Desarrollo en Salud,
Universidad de El Salvador, El Salvador
José Guillermo Mejía Valencia
Centro de Investigación y Desarrollo en Salud,
Universidad de El Salvador, El Salvador

Alerta
Ministerio de Salud, El Salvador
ISSN-e: 2617-5274
Periodicidad: Semestral
vol. 2, núm. 2, 2019
ralerta@salud.gob.sv

Recepción: 10 Julio 2019
Aprobación: 26 Julio 2019
Publicación: 31 Julio 2019

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/419/4191898006/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/alerta.v2i2.8054>

Forma recomendada de citar: Coto Hernández EM, Mejía JG. Determinación de la respuesta glucémica en ratones experimentales entre tres tipos de chocolate. *Alerta*. 2019;2(2):117-124. DOI: 10.5377/alerta.v2i2.8054

Resumen: Introducción. El chocolate posee constituyentes beneficiosos en su capacidad antioxidante y tienen un impacto positivo a nivel cardiovascular. Sin embargo, puede ser considerado como un producto con alto contenido calórico. Por lo cual, algunos han optado por el uso de edulcorantes alternativos naturales como la Stevia (Estevisido), por ejemplo. Debido a sus niveles de glucemia, es seguro para utilizar en productos destinados a personas con diabetes y enfermedades de esta índole. Objetivo. Determinar los niveles glucémicos en ratones experimentales tras la administración vía intragástrica de chocolate tradicional artesanal, chocolate tradicional con Stevia y chocolate comercial. Metodología. Se utilizaron cuatro grupos de cuatro ratones cada uno: un grupo control, un grupo de chocolate tradicional artesanal, uno con Stevia y otro con chocolate comercial. La administración de las sustancias fue por vía intragástrica. Luego se realizó una toma glucémica basal y posterior a los 30 y 60 minutos se determinó la glucemia. Resultados. El chocolate comercial da un aumento en la glucemia en comparación con el chocolate tradicional artesanal y con Stevia, mostrando diferencias significativas en ratones experimentales tras la administración vía intragástrica desde los primeros 30 minutos; luego de 60 minutos sus niveles de glucosa se empezaron a estabilizar. Conclusiones. El chocolate tradicional artesanal y con Stevia posee menor cantidad de sacarosa, lo cual determinó un bajo nivel glucémico en comparación al chocolate comercial, convirtiéndolos en ideales para el consumo en las cantidades recomendadas, pues no es propenso a provocar ninguna repercusión en los ratones tratados.

Palabras clave: Chocolate, Stevia, Glucemia, azúcar, ratones experimentales.

Abstract: Introduction. Chocolate has beneficial constituents in its antioxidant capacity and has a positive impact at the cardiovascular level. However; can be considered as a product with high caloric content. Therefore, some have chosen to use natural alternative sweeteners such as the Stevia (Stevioside). Due to your blood glucose levels, it is safe to use in products intended for people with diabetes and diseases of this kind. Objective. Determine glycemic levels in experimental mice after intragastric administration of artisanal traditional chocolate,

traditional chocolate with Stevia and commercial chocolate. Methodology. Four groups of four mice each were used: a control group, a group of traditional handmade chocolate, one with Stevia and another with commercial chocolate, the administration of the substances was intragastrically, then a basal glycemic intake was performed, after 30 and 60 min the glycemia was determined. Results. Commercial chocolate gives an increase in blood sugar, compared to traditional chocolate and Stevia, showing significant differences in experimental mice after intragastric administration of these substances from the first 30 minutes, after 60 minutes their glucose levels began to stabilize. Conclusions. The traditional chocolate with Stevia, has a lower amount of sucrose, which determined a low glycemic response compared to commercial chocolate, making them ideal for consumption in the recommended amounts, as it is not likely to cause any impact on the treated mice. Introducción

INTRODUCCIÓN

El chocolate y su creciente consumo a nivel mundial se explica principalmente debido a su atractivo sensorial. Una textura y sabor único, que lo convierten en un producto de confitería poco resistible^{1,2}. Pero el consumo de chocolate debe ser estimulado no solo por su aspecto sensorial, sino también por su calidad nutricional. Uno de sus constituyentes principales: el cacao, es una fuente importante de polifenoles, en forma de flavonoides, que no solo son beneficiosos por su capacidad antioxidante, sino también por su impacto positivo a nivel cardiovascular^{3,4,5,6}.

Sin embargo, la preocupación por la salud y la prevención de enfermedades, fundamentadas en el consumo de alimentos saludables bajos en calorías y grasas, es una tendencia del último decenio que ha generado nuevas dinámicas en la industria de la confitería^{7,8,9}.

En el caso del chocolate puede ser considerado como un producto con alto contenido calórico. Por lo que algunos han optado por el uso de edulcorantes alternativos naturales como sustituyentes del azúcar. Uno de los más representativos es la Stevia (Esteviósido), que proporciona energía metabolizable durante su consumo; este compuesto se extrae de las hojas de la planta Stevia rebaudina. Debido a su bajo nivel glucémico, es considerado como un edulcorante seguro para utilizar en productos destinados a personas con diabetes y enfermedades de esta índole¹⁰. El diterpeno glucósido esteviósido es el principal componente dulce presente en las hojas de Stevia. Desde el año 2011 tiene aprobación por parte de la Unión Europea para ser utilizado como edulcorante E 960¹¹. Se estima que la dulzura del esteviósido es aproximadamente 300 veces la de la sacarosa¹².

Según la Organización Mundial para la Salud (OMS), el consumo de azúcares no debe superar el 10 % de la ingesta calórica total diaria, lo que equivale a 50 gramos de azúcar o 12 cucharadas al día. Por otro lado, la OMS también insiste en que reducir el consumo diario de azúcar a 25 gramos, o 6 cucharadas, proporciona beneficios adicionales. Con base en otras investigaciones en cuanto al chocolate se recomienda comer entre 20 a 30 gramos diarios¹³.

La respuesta glucémica se usa como una manera de clasificar a los alimentos según su potencial para aumentar la glucosa en sangre (azúcar en sangre). Los alimentos con mayores velocidades de digestión y absorción de hidratos de carbono hacen que los niveles de azúcar en sangre aumenten con mayor rapidez que aquellos con una menor respuesta glucémica cuando la glucosa se libera a la sangre lentamente¹⁴.

Los científicos dicen que la rapidez con la que se absorben los hidratos de carbono después de una comida tiene efectos considerables sobre los niveles de insulina y la salud en general. Comer muchos alimentos de alta carga glucémica puede aumentar el riesgo de obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedades cardíacas¹⁴.

La OMS y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) recomiendan que las personas de los Estados Unidos y de otros países industrializados basen sus dietas en alimentos de bajo grado glucémico para reducir el riesgo de muchas enfermedades.

En la presente investigación se dará a conocer la respuesta glucémica de los diferentes tipos de chocolate, es decir, ver los niveles de azúcar que poseen mediante el consumo del chocolate en animales experimentales tomando como control negativo el agua destilada y haciendo comparación entre estos, además de observar cuánto tiempo permanece la glucosa en sangre.

METODOLOGÍA

Preparación de la sustancia de ensayo

Se realizó el cálculo de la concentración dando una conversión de 4,33 gramos para un balón de 10 ml. Se hizo la maceración de cada uno de los chocolates en un mortero con pistilo para obtener el polvo, posterior a ello se pesó en una balanza analítica y finalmente se colocó en un balón de 10 ml. Con un embudo se agregó el polvo y se disolvió con agua destilada por goteo y agitación en vortex hasta diluirse por completo.

Animales de laboratorio

Se utilizaron ratones experimentales (*Mus musculus*) para la investigación de cepa NIH genéticamente definidos, todos pertenecientes al Laboratorio de Experimentación Animal del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), con un peso corporal de aproximadamente entre 20 a 30 g, en condiciones ideales de temperatura, humedad relativa de 22 ± 2 °C y 50 – 70 % respectivamente, con un ciclo luz-oscuridad 12-12 h. Para los experimentos se utilizaron animales con 12 h de ayuno. Los ratones fueron marcados con ácido pícrico para su identificación individual; a todos se les examinó clínicamente previo a cada ensayo, para certificar su buen estado de salud.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Se mantuvieron a los animales en las condiciones de alojamiento y alimentación adecuadas para el experimento, por lo menos los cinco primeros días anteriores al mismo. Antes de comenzar el ensayo, se eligieron al azar animales jóvenes y sanos.

Se utilizaron dosis referentes al consumo de chocolate diario permitido para el humano; es decir, 30 gramos, convertido a dosis equivalentes en ratones mg/kg de peso respectivamente. Los animales del grupo testigo (grupo control negativo) deben ser tratados de la misma forma que los grupos de ensayo.

Se utilizaron 4 grupos (4 ratones/grupo) y se determinó la glucemia basal para determinar el estado normoglucémico de los animales antes de la realización de cada prueba y poder contar con un parámetro de comparación. Luego se proporcionó el tratamiento en cada ratón vía intragástrica por medio de una cánula. La administración de las sustancias fue luego de la toma glucémica basal de acuerdo con el peso corporal del ratón de la siguiente manera:

- Grupo 1 (control): agua destilada.
- Grupo 2 (chocolate tradicional artesanal).
- Grupos 3 (chocolate con Stevia).
- Grupo 4 (chocolate comercial).

Posterior a los 30 y 60 minutos se determinó la glucemia con tiras reactivas (sets comerciales) a partir de muestras de sangre extraídas de la vena (caudal) de la cola de los ratones, utilizando un glucómetro digital (Imagen 1). Lo anterior obedece al tiempo en que tarda la sustancia en metabolizarse en el organismo del ratón, para que se encuentre en el torrente sanguíneo.

En los experimentos para evaluar la prueba se aplicó un diseño completamente al azar (DCA). La asignación de los grupos tratamientos (sustancias de ensayos), control (Figura 1).

Análisis estadístico

Los resultados están expresados como promedio \pm error estándar. Para esto se utilizaron los paquetes estadísticos: Statgraphics (para el análisis de normalidad) y SPSS21, para comparar las respuestas glucémicas entre los chocolates (ANOVA Tukey). Para cada uno de los análisis se consideró significativo cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se realizaron tres tomas de glucemia para individuo en los tiempos basal de 30 minutos y 60 minutos, dando como resultado lo que se detalla a continuación:

Los valores de glucosa basal en ratones experimentales se pueden observar en la Figura 2. Las medias basales se encuentran en un intervalo $93,50 \pm 3,122$ mg/dL a $105,50 \pm 4,05$ mg/dL. No existen diferencias significativas en los grupos experimentales, con un valor de probabilidad correspondiente a 0,247.

Treinta minutos después se realizó la toma de glucosa en sangre nuevamente. En este caso, el valor de la glucosa se incrementó en los grupos tratados con los diferentes chocolates, mostrándose en la Figura 3 diferencias significativas entre el grupo 1 (agua destilada), con una media de $123,5 \pm 5,268$ mg/dL, y el grupo 4 (chocolate comercial), con $168 \pm 14,177$ mg/dL, con un valor de probabilidad correspondiente a 0,034. En cuanto al grupo 2 (chocolate tradicional artesanal) fue de $125,75 \pm 12,148$ mg/dL ($p = 0,998$) y el grupo 3 (chocolate con Stevia) fue de $129,00 \pm 4,546$ mg/dL ($p = 0,972$), lo que refleja un leve incremento de glucosa respecto al grupo control, tomando en cuenta que P es equivalente a la probabilidad correspondiente.

Sesenta minutos después de la administración de la sustancia ensayo se realizó la siguiente toma de glucosa. En la Figura 4 se aprecian los valores de glucosa tras 60 minutos luego de la administración vía intragástrica; en este caso no hubo una diferencia significativa con respecto al grupo control. Sin embargo, puede notarse que los niveles de glucosa del chocolate normal comercial se mantuvieron más altos, con una media de $178 \pm 8,386$ mg/dL ($p = 0,1$), respecto a los demás tratamientos. Los otros grupos presentaron medias de $119,75 \pm 7,409$ mg/dL ($p = 0,461$), para el grupo 2 (chocolate tradicional artesanal), y $136 \pm 6,868$ mg/dL ($p = 0,989$) para el grupo 3 (Chocolate con Stevia). Donde P es equivalente a la probabilidad correspondiente.

DISCUSIÓN

La Junta de Alimentación y Nutrición del Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos afirma que los alimentos con una menor respuesta glucémica también pueden ser útiles para reducir la respuesta de la persona a la insulina, por tanto, reducir el riesgo de diabetes. Además, los alimentos almidonados se absorben más lentamente, ya que están menos procesados o se procesaron de maneras tradicionales, y podrían tener ventajas para la salud sobre aquellos que se digieren y absorben rápidamente. En este caso, el chocolate tradicional artesanal y con Stevia tuvieron una menor respuesta glucémica ante el chocolate comercial, pudiendo ser también un índice de variación el tipo de procesamiento que cada uno de estos conllevan¹⁴.

La Stevia posee en sus hojas una sustancia denominada esteviósido, constituida por una mezcla de por lo menos seis glucósidos diterpénicos, que es 300 veces más dulce que la sacarosa. Por sus características físico-

químicas y toxicológicas permite su inclusión en la dieta humana para ser utilizada como un edulcorante dietético natural, sin efectos colaterales. Así, la presencia de estos compuestos en el chocolate con Stevia puede ser el factor que provoca una menor respuesta glucémica en los ratones experimentales en esta investigación en comparación con el grupo con chocolate comercial^{15,16}.

De acuerdo con el perfil glucémico en ratones experimentales del Bioterio Central, Barquisimeto, Venezuela, el valor promedio normal de glucemia concuerda con esta investigación. A pesar de que los niveles de glucemia aumentaron entre los grupos experimentales siempre se mantuvieron dentro del rango normal para esta especie¹⁷.

Dependiendo de la pureza del cacao así pueden ser las repercusiones que tenga en la salud humana, puesto que el cacao no es el dañino, sino más bien la cantidad de azúcar que posea el chocolate al prepararse. González, en su libro “Nuevas claves para incrementar el nivel de salud y retrasar el envejecimiento”, menciona que el cacao puro es una fuente importante de flavonoles, fitonutrientes del grupo de los flavonoides que ejercen una potente actividad antioxidativa, lo que ayuda a prevenir el daño celular. Esto mitiga la progresión de fenómenos degenerativos asociados a la edad, como la arteriosclerosis y conduce a claros efectos antihipertensivos, antiinflamatorios, cardioprotectores, antitrombóticos, neuroprotectivos, metabólicos e, incluso, antiproliferativos.

Así, su consumo regular protege frente al desarrollo y la progresión de diversas enfermedades crónicas. Por ello hace una connotación que su consumo moderado es muy viable. Tal y como en esta investigación, el chocolate tradicional artesanal y con Stevia, no elevó los niveles de glucemia en los ratones experimentales, a diferencia del chocolate comercial, que tuvo un incremento significativo. El porcentaje de azúcar de este último posee un nivel mucho más alto que el tradicional artesanal¹⁸.

CONCLUSIONES

El chocolate tradicional artesanal posee una menor cantidad de sacarosa, lo cual determina un bajo nivel glucémico en comparación al chocolate comercial, mostrando diferencias significativas en ratones experimentales tras la administración vía intragástrica de dichas sustancias. Luego de 60 minutos sus niveles de glucosa empezaron a estabilizarse.

Se considera que el chocolate tradicional artesanal y el chocolate con Stevia son ideales para el consumo en las cantidades recomendadas, ya que no es propenso a provocar ninguna repercusión en ellos, a diferencia de otros tipos de chocolates comerciales que sí repercuten en la salud humana.

AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto Desarrollo Tecnológico y Fortalecimiento de la Base Productiva y Agroindustrial para la Cacaocultura con Enfoque Agroecológico en El Salvador del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova” (CENTA). También se le agradece a la Br. Fabiola Amador (estudiante de Lic. en Biología) por su apoyo como asistente en el Laboratorio de Experimentación Animal y al licenciado Wilson Martínez (QDDG) por su apoyo incondicional, inspiración y ejemplo a seguir.

CONFLICTO DE INTERÉSES

Los autores expresan no tener conflicto de intereses.



IMAGEN 1.
Toma de glucemia en ratones experimentales
Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador.

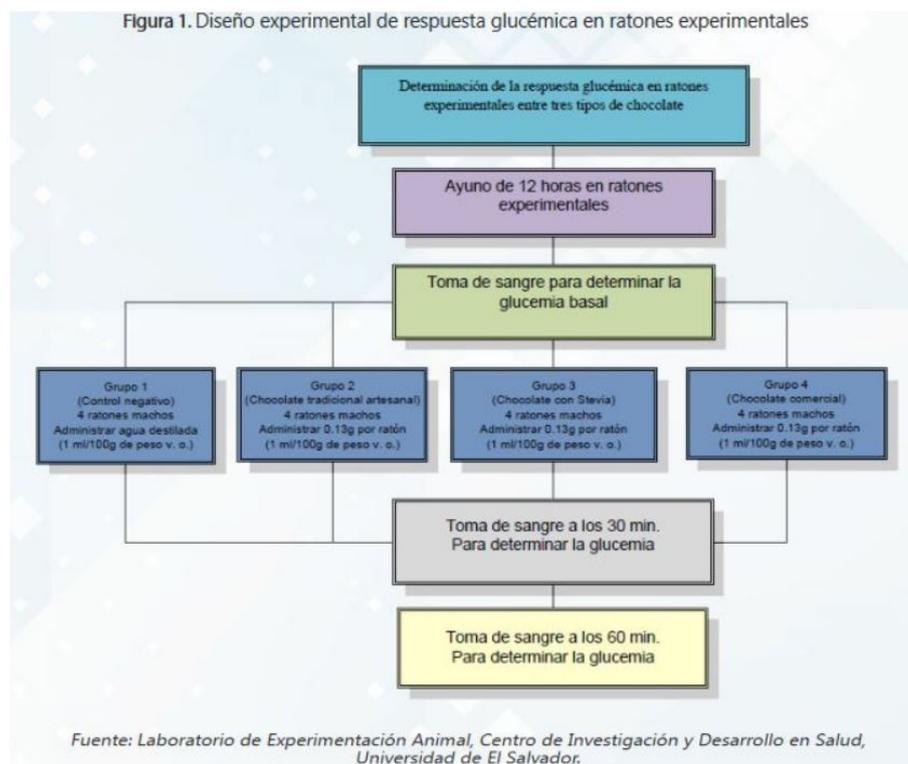


FIGURA 1.
Diseño experimental de respuesta glucémica en ratones experimentales
Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador.

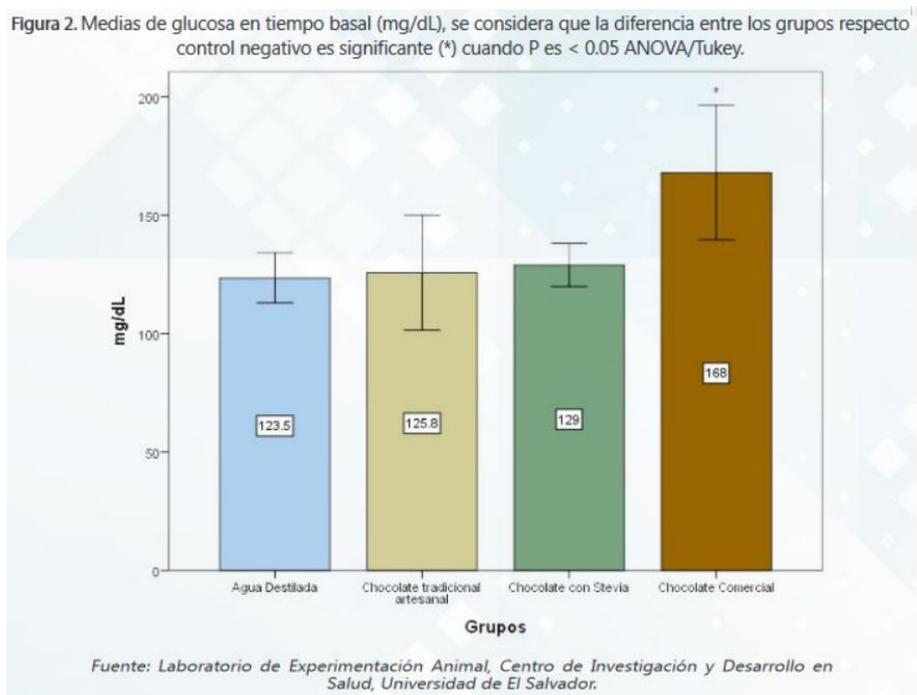


FIGURA 2

Medias de glucosa en tiempo basal (mg/dL), se considera que la diferencia entre los grupos respecto control negativo es significativa (*) cuando P es < 0.05 ANOVA/Tukey. Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador.

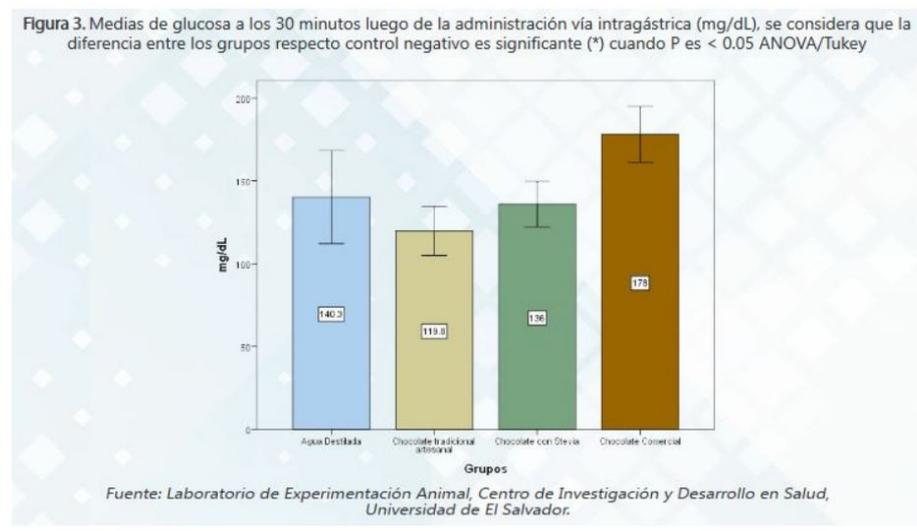


FIGURA 3

Medias de glucosa a los 30 minutos luego de la administración vía intragástrica (mg/dL) se considera que la diferencia entre los grupos respecto control negativo es significativa (*) cuando P es < 0.05 ANOVA/Tukey. Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador.

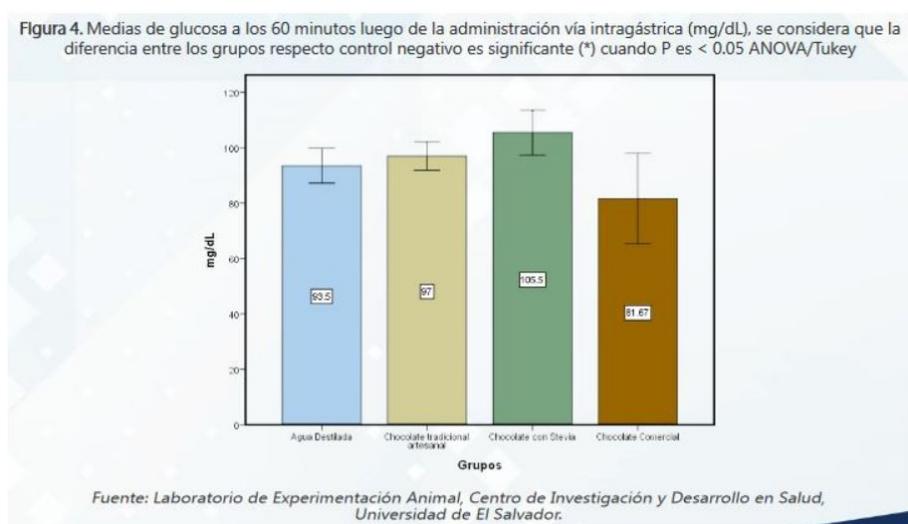


FIGURA 4.
Medias de glucosa a los 60 minutos luego de la administración vía intragástrica (mg/dL), se considera que la diferencia entre los grupos respecto control negativo es significativa (*) cuando P es < 0.05 ANOVA/Tukey
Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aidoo RP, Depypere F, Afoakwa EO & Dewettinck K. Industrial manufacture of sugar-free chocolates: applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product development. *Trends in Food Science & Technology*, 2013. 32(2). p. 84-96. DOI: 10.1016/j.tifs.2013.05.008.
2. Meier BP, Noll SW, and Molokwu OJ. The sweet life: the effect of mindful chocolate consumption on mood. *Appetite*, 2017. 108(0). p.21-27.
3. Kuebler U, Arpagaus A, Meister RE, von Känel R, Huber S, Ehlert U, Wirtz PH. Dark chocolate attenuates intracellular pro-inflammatory reactivity to acute psychosocial stress in men: A randomized controlled trial. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2016. 57(0), p. 200-208. DOI: 10.1016/j.bbi.2016.04.006.
4. Kwok CS, Loke YK, Welch AA, Luben RN, Lentjes MAH, Boekholdt SM, Pfister R, Mamas MA, Wareham NJ, Khaw K-T, Myint PK. Habitual chocolate consumption and the risk of incident heart failure among healthy men and women. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2016. 26(8), p. 722-734. DOI: 10.1016/j.numecd.2016.01.003.
5. Sim SY, NgJW, Ng WK, Forde CG, Henry CJ. Plant polyphenols to enhance the nutritional and sensory properties of chocolates. *Food Chemistry*, 2016. 200(0), p. 46-54. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.12.092.
6. Zyzelewicz D, Krysiak W, Oracz J, Sosnowska D, Budryn G & Nebesny E. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. *Food Research International*, 2016. 89(0), p. 918-929. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.03.026.
7. Aidoo RP, Afoakwa EO and Dewettinck K. Rheological properties, melting behaviours and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processed using inulin/polydextrose bulking mixtures sweetened with stevia and thaumatin extracts. *LWT – Food Science and Technology*, 2015. 62(1), p. 592-597.
8. Belščak-cvitanović A, Komes D, DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.06.064.
9. Rezende NV, Marta T, Fernanda Z, Pedro PC, Maria VE. Mixture design applied for the partial replacement of fat with fibre in sucrose-free chocolates. *LWT – Food Science and Technology*, 2015. 62(1), p. 598-604. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.08.047.

10. Shah AB, Jones GP and Vasiljevic T. Sucrose-free chocolate sweetened with Stevia rebaudiana extract and containing different bulking agents – effects on physicochemical and sensory properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 2010. 45 (7), p. 1426- 1435.
11. Reub F. Steviosid aus SuBkraut. *Chemie in unserer zeit*, 2016. 50(3), p. 198-208.
12. Geuns J. Stevioside. *Phytochemistry*, 2003. 64(5), p. 913-921.
13. Mammoth Hunters. Guía del Chocolate, Cuanto y Cual debo comer. 2018. <https://mhunters.com/es/blog/guia-del-chocolate-cuanto-y-cual-debo-comer/> [consultada el 13 de agosto de 2018].
14. Calorie Control Council. Beneficio de los Polioles. 2018. <https://datosobrelospolios.com/para-promover-tu-salud-considera-tu-respuesta-glucemica/> [consultada el 13 de agosto de 2018].
15. Osorio CB. Bogotá, Colombia. Plan estratégico para la Stevia “El dulce sabor de tu vida”. 2007. <https://encolombia.com/medicina/revistas-medicas/academedia/va114/respuesta-glucemica/> [consultada el 13 de agosto de 2018].
16. Palacios Hurtado JH, Roa JD, Caicedo MC, Girón JM. Edulcorantes naturales utilizados en la elaboración de chocolates. 2017. DOI: 10.18684/bsaa(15)142-152.
17. Fuentes M, Acosta L y Rodríguez P. Perfil lipídico, proteico y glicemia en ratones NMRI, C57BL/6 y Balb/c producidos en la UCLA. Venezuela. 2008. pp 92-103.
18. Yanira R. Beneficios nutricionales y anti envejecimiento del chocolate. 2018. <https://steemit.com/spanish/@yany23/beneficios-nutricionales-y-anti-envejecimiento-del-chocolate>. [consultada el 13 de agosto de 2018].