



# Análisis fisicoquímico y microbiológico del chocolate

**Nombre:** Valeria Ramos, Erika Galván.

**Grupo:** 3°BG Química.

**Profesor/es:** Anarella Gatto, Natalia Boscana, Pamela Brum, Raúl Britos.

<b>Resumen</b>	3
<b>Introducción</b>	3
Palabras clave.	3
Pregunta investigable.	3
Objetivo:	3
<b>Marco teórico</b>	4
Tipos de cacao	4
Cacao Criollo	4
Cacao Forastero	5
Cacao Trinitario	5
Cosecha	5
Fermentación	6
Sabor	7
Coloración	8
Secado	9
Secado natural	9
Beneficios del cacao para la salud	10
Medios de cultivo	10
Listeria monocytogenes	12
Lípidos	13
Índice de saponificación	14
Método de Soxhlet	15
Ácidos Grasos	16
Espectrofotómetro	17
<b>Metodología</b>	20
Plan de muestreo	20
Determinación de Cenizas	20
Determinación de fósforo:	20
Determinación de Grasas Totales	21
Determinación del índice de saponificación:	22
Determinación de listeria monocytogenes:	22
<b>Resultados</b>	22
Determinación de Cenizas:	22
Determinación de fósforo:	23
Determinación de Grasas Totales:	24
Determinación del índice de saponificación:	24
Determinación de listeria monocytogenes:	24
<b>Discusión</b>	25
<b>Conclusiones</b>	26

<b>Bibliografía</b>	26
<b>Anexos</b>	30
Ácido Clorhídrico	30
Éter de petróleo	30
Hidróxido de potasio 0,5 mol/L	31
Ácido Sulfúrico 5 mol/L	32
Molibdato de Amonio	32
Fenolftaleína	33

## Resumen

El proyecto consistió en tomar una muestra representativa de chocolate de distintas marcas comerciales en el año 2020, con el fin de analizar algunas propiedades físico-químicas y microbiológicas. Para esto se realizaron diferentes procesos en los que se cuantificó, a las distintas muestras de chocolate: cenizas, fósforo, grasas totales, índice de saponificación, y ausencia de *listeria monocytogenes*. Se decidió estudiar algunas de las características del chocolate ya que es una golosina comúnmente conocida y consumida por el mundo entero. La pregunta investigable fue: ¿Cómo varía la concentración de fósforo, índice de saponificación y la ausencia de *listeria monocytogenes* en dos marcas diferentes (de diferentes concentraciones de manteca y pasta de cacao) de chocolate comercializadas en Uruguay? y se contestó a través de los diferentes análisis y cálculos realizados a la muestra mencionados anteriormente. Los resultados de los análisis fueron los siguientes: Chocolate 70 %: cenizas ( $2,142 \pm 0,009$ ) %; fósforo ( $1,17 \pm 0,01$ ) ppm; grasas totales ( $49,26 \pm 0,30$ ) %; índice de saponificación ( $11,12 \pm 0,10$ ) mg KOH/g; y ausencia de *listeria monocytogenes*. Chocolate 40 %: cenizas ( $1,565 \pm 0,004$ ) %; fósforo ( $1,30 \pm 0,01$ ) ppm; grasas totales ( $38,54 \pm 0,27$ ) %; índice de saponificación ( $24,92 \pm 0,23$ ) mg KOH/g; y ausencia de *listeria monocytogenes*.

## Introducción

### **Palabras clave.**

Cacao, chocolate, físico-químico, microbiológico, saponificación, fermentación, cosecha, lípidos, ceniza, grasa, *listeria monocytogenes*, espectrofotómetro.

### **Pregunta investigable.**

¿Cómo varía la concentración de fósforo, índice de saponificación y la ausencia de *listeria monocytogenes* en dos marcas diferentes (de diferentes concentraciones de manteca y pasta de cacao) de chocolate comercializadas en Uruguay?

### **Objetivo:**

Conocer algunos parámetros de la composición nutricional de distintas marcas comerciales de chocolate en el año 2020.

## **Marco teórico**

El cacao es el producto obtenido de la molienda de la torta de cacao tras el prensado y eliminación de la grasa. Este producto se considera una materia prima esencial en la fabricación de galletas, tortas y productos de panadería, helados y bebidas de chocolate debido a su capacidad para dar sabor y color. Durante el procesado del cacao, el polvo se puede aplicar un proceso de alcalinización que tiene por objetivo neutralizar el medio y desarrollar aromas y color. Como consecuencia de las reacciones químicas que dan lugar al desarrollo de aroma y color, ciertos componentes de la muestra pueden verse afectados, modificándose por tanto el perfil nutricional y funcional de los polvos de cacao. (Mojica, Joaquín & Vega, 2006)

Los granos de cacao tienen un sabor ácido desagradable, por lo que para obtener cacao con el color y el sabor del chocolate deben ser fermentados, tostados y secados. En el proceso de fermentación participan los microorganismos que se encuentran naturalmente en los granos, de entre los cuales actúan primeramente las levaduras. Posteriormente actúan las bacterias lácticas y, finalmente, intervienen las bacterias acéticas, los bacillus y las enterobacterias. Esta fermentación es esencial tanto para modificar los granos, eliminando el mucílago, como para preparar el grano que requieren las enzimas encargadas de modificar su color, sabor y olor, produciendo también compuestos de sabor. La fermentación es una etapa del procesamiento del grano de cacao, que requiere aún de investigación, ya que hasta la fecha sigue siendo bastante empírica. Una fermentación en condiciones controladas permitirá obtener cacao de buena calidad y de características homogéneas. La cadena de cacao se divide en tres eslabones de acuerdo a cada etapa del proceso productivo. Un eslabón primario que se refiere a los procesos de siembra, mantenimiento y recolección de cacao, al cual pertenecen todos los agricultores o dueños de las tierras y productores de insumos; un segundo eslabón que abarca la comercialización del grano, tanto a nivel interno como externo, desde el momento en que el grano es comprado por los agentes, hasta que es colocado en la puerta de las fábricas procesadoras o en el país de destino de las exportaciones. Finalmente, el eslabón industrial comprende el procesamiento del grano para producir licor, pasta, manteca, polvo de cacao, chocolates y confites que contengan chocolate. (Mojica, Joaquín & Vega, 2006).

### **Tipos de cacao**

#### **Cacao Criollo**

Estos tienen cotiledones violeta pálido, estaminoideos de color rosa pálido, las mazorcas de forma alargada con punta muy acentuada en el extremo inferior, marcados con diez surcos muy profundos o a veces en grupos alternos cinco, el pericarpio es rugoso y delgado, el mesocarpio poco lignificado. Siendo estas de color rojo o verde en estado inmaduro,

tornándose amarillas y anaranjado rojizos cuando están maduras. Los granos del cacao Criollo son gruesos, casi redondos, con cotiledones muy ligeramente pigmentados. Estos requieren de dos a tres días para fermentar, es muy aromático y se designa comercialmente como “Cacao Fino”, presentando un chocolate apetecido por el sabor a nuez y frutas. (Borbor & Vera, 2007)

### **Cacao Forastero**

Es característico del cacao Forastero o Amazónico la acidez del grano, el pequeño tamaño de la almendra, su sabor amargo y color bastante pigmentado de los cotiledones. Estos materiales son originarios de la cuenca alta del río Amazonas y un ejemplo característico de ellos es el material IMC 67 (Iquitos Marañón Collection) usado como patrón y polinizador. Se ha expandido principalmente al África Occidental y Brasil (Fedecacao, 2004). Presentan estaminoides de color violeta, las mazorcas son amarillas cuando están maduras, presentan surcos y rugosidad poco notables; son lisas y de extremos redondeados. La cáscara es algo grueso y el mesocarpio lignificado, los granos son más o menos aplanados con cotiledones de color púrpura (Borbor & Vera, 2007).

### **Cacao Trinitario**

Desarrollados en la isla de Trinidad, provienen de cruces espontáneos y dirigidos de Criollos y Forasteros, por lo cual presentan características intermedias de estos dos tipos y una amplia variabilidad genética. Son algunos de los materiales más difundidos hoy día a nivel mundial. Presentan en general buenos rendimientos y alta tolerancia a problemas fitosanitarios un ejemplo son los clones ICS (Imperial Collage Selection), CCN (Colección Castro Narajal) y TSH (Trinidad Selection Amazon) (Fedecacao, 2005).

### **Cosecha**

El estado ideal para cosechar las mazorcas es cuando están maduras, sin embargo, en el momento de la recolección, no todas se encuentran en ese estado, y se recolectan también las mazorcas que recién comienzan su maduración (pintonas). En los períodos “picos” de cosecha, las rondas de recolección se deben realizar semanalmente. No obstante, en las temporadas de menor producción, las cosechas se pueden programar cada dos o tres semanas. Es fundamental no dejar sobre madurar las mazorcas pues se pueden contaminar de algunas enfermedades con hongos (fungosas). Este estado propicia la germinación de los granos, que se considera un defecto de calidad (Cubillos, Merizalde & Correa, 2008).

## **Fermentación**

Existen básicamente dos sistemas de fermentación: en pilas y en charolas. En el primero se hacen pilas de granos de cacao, se rompen las vainas y se acumulan los granos. Se voltean cada 24-72 horas para asegurarse que el aire circule entre ellos. El otro sistema consiste en usar charolas, en las que se colocan los granos en capas delgadas, acomodando las charolas una encima de otra, de manera tal que el aire pase a través de ellas y no sea necesario mover los granos para que se aireen. Los microorganismos llevan a cabo la fermentación en la pulpa, que contiene glúcidos (glucosa, fructosa, sacarosa) y un valor de acidez (pH) entre 3.3 y 4.0, debido a la presencia de ácido cítrico. La pulpa es viscosa porque contiene pectina y otros polisacáridos, que además dificultan la difusión del aire. El proceso de fermentación del cacao es natural o espontáneo, ya que no se añaden intencionalmente los microorganismos a los granos, que de hecho se encuentran estériles dentro de las vainas. Se contaminan con microorganismos provenientes de todas las superficies con las que entran en contacto: los utensilios y las manos de las personas que manipulan el cacao. Durante la fermentación, que puede dividirse en fases, ocurre una sucesión de poblaciones de microorganismos: Primera fase, la pulpa es rica en glúcidos y tiene un pH bajo. En esas condiciones se favorece el desarrollo de levaduras, aparecen entre 5 y 6 especies diferentes de levaduras, que luego desaparecen dejando su lugar a *Hanseniaspora guilliermondii*, que es la levadura predominante durante las primeras 24 horas. A *Hanseniaspora* sólo se le encuentra ocasionalmente en las fases posteriores. La levadura *Candida zemplinina* es una nueva especie que sólo se pudo detectar hasta que aparecieron las técnicas modernas de la biología molecular que detectan la presencia de microorganismos por sus genes, más no cultivándolos. *Candida silvae*, *Candida zemplinina* y *Candida diversa* son levaduras que se encuentran comúnmente en las fermentaciones en charolas, posiblemente por la mayor concentración de dióxígeno en ese tipo de fermentación. Se reporta que a las 36-38 horas dominan *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia membranaefaciens*, que se encuentra al final de la fermentación; *Candida krusei* y *Hanseniaspora guilliermondii*, en las fermentaciones en charolas, y predomina también *Saccharomyces cerevisiae* (Nielsen, 2007).

En las fermentaciones por pilas que se llevan a cabo en Ghana, uno de los principales países productores de cacao, *Pichia kudriavzevii*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Hanseniaspora opuntiae* son los componentes principales de la comunidad de levaduras. *H. opuntiae* se desarrolla al principio de la fermentación, debido a su tolerancia a valores bajos de pH y a sus características metabólicas (Daniel, 2009).

En la fermentación del cacao participan un gran número de especies de microorganismos, algunos de los cuales no se han reportado en otros ambientes o fueron aislados inicialmente del cacao. Este es el caso de nuevas levaduras como *Candida halmiae*, *Geotrichum ghanense*, *Candida awuuii* (Nielsen, 2010).

Las levaduras llevan a cabo el proceso de fermentación, transformando los azúcares sencillos del mucílago o pulpa en etanol, degradando la pectina, lo que modifica la textura del grano y elimina el ácido cítrico, lo que trae como consecuencia una disminución de la acidez. Por otro lado, el consorcio de levaduras consume el dióxígeno, creando un ambiente anaerobio que favorece el desarrollo de bacterias lácticas. En la segunda fase del proceso de fermentación

del cacao, se favorece el desarrollo de bacterias lácticas, que fermentan los glúcidos residuales y continúan el consumo del ácido cítrico. En las fermentaciones de pilas se han aislado sobre todo bacterias del tipo *Lactobacillus* (*Lb. collonides*, *Lb. fermentum*, *Lb. mali* y *Lb. plantarum*), aunque también se han identificado bacterias como *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc pseudoficulneum*, y *Pediococcus acidilactici*. Por otro lado, *Lb. fermentum* y *Lb. plantarum* son indígenas de esta fermentación. Una cepa de *Weissella*, una bacteria láctica aislada de fermentaciones de cacao en Ghana, se reportó como una especie nueva, *Weissella fabaria* (De Bruyne, 2010).

Las levaduras contienen enzimas del tipo “pectinolítico”, lo que les permite hidrolizar las pectinas, ocasionando una disminución de la viscosidad de la pulpa de mucílago y favoreciendo la entrada de aire. Con este ambiente aerobio y menos ácido -debido al consumo de ácido cítrico- se favorece el desarrollo de bacterias acéticas. En la tercera fase del proceso de fermentación ocurre un cambio importante en términos de los productos de la fermentación, ya que intervienen bacterias acéticas que llevan a cabo la transformación del etanol que produjeron las levaduras en ácido acético, tal como ocurre en la industria productora de vinagre. Dado que la transformación de etanol en ácido acético es una reacción exotérmica, se produce calor. El etanol y el ácido acético se difunden hacia el interior de los granos y, junto con la temperatura alta, matan al embrión. Las más importantes bacterias acéticas que se han aislado de la fermentación del cacao, son: *Gluconobacter oxydans*, *Acetobacter aceti* y *Acetobacter pasteurianus*. Se encuentra primero *Gluconobacter oxydans*, luego *A. syzygii* y *Acetobacter pasteurianus* y, al final de la fermentación, *Acetobacter tropicalis* (Nielsen, 2007). *Acetobacter fabarum* es una especie nueva, aislada de fermentaciones de cacao en Ghana (Cleenwerck, 2008).

En la cuarta y última fase de la fermentación, que se desarrolla entre las 48 y las 60 horas, se detectan bacterias del género *Bacillus*. Al voltear la pila de granos, se favorece la presencia, en las partes externas, de *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus* y un grupo pequeño de *B. subtilis*, *B. megaterium* y *B. pumilus*. La temperatura alta favorece el desarrollo de bacterias del género *Bacillus*, conocido por la producción de numerosas enzimas, que catalizan reacciones cuyos productos dan al cacao sabores y olores desagradables, como las proteolíticas, que degradan las proteínas y las lipolíticas, que actúan sobre las grasas; pero podrían contribuir en el sabor con la producción de ácidos orgánicos y saborizantes, como 2,3-butanodiol (Ardhana & Fleet, 2003).

Cuando García - Armisen (2010) usaron métodos modernos basados en la biología molecular de los microorganismos para estudiar la fermentación del cacao, detectaron bacterias *Tatumella*, *Pantoea* y *Erwinia*, que no se habían reportado nunca antes en la fermentación del cacao. Se sabe que pueden ser fitopatógenas (es decir, que causan daño a la planta), pero estos autores piensan también que podrían contribuir en el consumo de citrato.

## **Sabor**

Se sabe que en el sabor a chocolate participan por lo menos 500 compuestos diferentes y que este sabor depende de muchos factores, como el tipo de grano de cacao, la época en la cual se



cosechó, la fermentación (la acción de microorganismos), la acción de enzimas endógenas (enzimas del cacao), el rostizado y el secado. Es por lo mismo muy difícil definir de cuál de todas estas etapas depende la producción de aromas. Las enzimas endógenas, por ejemplo, pueden actuar sobre los glúcidos, proteínas y polifenoles del grano de cacao, generando aromas. Durante la fermentación los microorganismos juegan papeles muy importantes: las levaduras eliminan la pulpa que rodea a los granos de cacao frescos, des-polimerizando o rompiendo la pectina y en las condiciones anaeróbicas (sin dioxígeno) que imperan en el ambiente, llevando a cabo la fermentación de los azúcares para producir etanol. Las bacterias lácticas fermentan los azúcares y producen ácido láctico, ácido acético y manitol. Ambos tipos de microorganismos consumen el ácido cítrico. Las bacterias lácticas convierten el etanol en ácido acético y esa reacción produce calor, por lo que la temperatura aumenta hasta 50 °C. El etanol y el ácido acético producidos penetran en los granos, haciendo que su pH interno disminuya de 6.5 a 4.8 y junto con el incremento de la temperatura a 50 °C, dañando la estructura interna del cacao. Esto debe ocurrir para que se formen precursores del sabor, que en etapas posteriores se convertirán en compuestos de sabor. También ocurre la degradación de pigmentos por las enzimas endógenas. Tal vez el papel más importante de los microorganismos es el desarrollo de precursores del sabor a chocolate, porque, como hemos señalado, sin la fermentación no se obtiene el sabor completo del chocolate. Pero por otra parte, los microorganismos también son esenciales para preparar el grano, ya que sin ellos no se eliminaría el mucílago, no se eliminaría la acidez del grano, causada por la presencia del citrato, y sin la producción del ácido acético, el etanol y la temperatura alta, el grano de cacao no se dañaría, dando lugar a la acción de sus enzimas. No se conoce con detalle cuáles son los compuestos que determinan el sabor a chocolate; sin embargo, encontraron que existía una correlación entre el aroma de un lote de cacao y el conjunto de microorganismos que lo fermentan, identificados a través de técnicas modernas como la Electroforesis en Gel con Gradiente Desnaturalizante (DGGE), que consiste en identificar microorganismos dentro de poblaciones complejas en un medio ambiente determinado mediante la separación de los genes de sus ribosomas. Estos análisis se realizan por separado para analizar bacterias y levaduras de forma separada. Se detectaron asimismo enterobacterias de los géneros *Tatumella* y *Pantoea*, que no se detectaron mediante los métodos tradicionales. El consumo de sustratos y la producción de metabolitos fueron similares a los reportados para las fermentaciones tradicionales, con la única desventaja de que no se mezclaron los granos de manera eficiente. Mientras mejor se conozcan los eventos que ocurren durante cada etapa del proceso, será posible controlarlo. Aunque todavía es necesario mejorarlos, los métodos actuales de microbiología han permitido avanzar en ese conocimiento, que guarda hasta la fecha un importante carácter empírico. (Nielsen, 2008)

### **Coloración**

La coloración del cacao según la variedad es responsabilidad de diversos compuestos químicos presentes, entre dichos compuestos se encuentran el grupo de las antocianinas, una de las pruebas que se realiza para verificar el debido proceso de fermentación es el contenido

de las mismas, ya que son compuestos que participan activamente en las modificaciones bioquímicas en el interior de las almendras durante la fermentación. Una de ellas, la oxidación enzimática, causada por la oxidación y la disminución del contenido de polifenoles, a través de la hidrólisis de las antocianinas y la polimerización de los monómeros y oligómeros de flavonoles, transformándolos en compuestos insolubles (Calderón, 2002; Amores, 2007).

Como resultado disminuye la astringencia y el amargor, influyendo positivamente sobre la calidad sensorial del cacao, en las almendras violetas, este fenómeno es incompleto o no se ha producido, por lo que la intensidad de amargor y astringencia se encuentra asociada a una mayor concentración final de flavonoides (polifenoles y antocianinas). Si la fermentación es bien llevada, la concentración de flavonoides se reducirá significativamente (Calderón, 2002; Amores, 2007).

### **Secado**

Después de la fermentación el cacao se debe secar inmediatamente, no solo para disminuir la humedad del grano que debe quedar al 7 %, sino también, para que continúen algunas reacciones bioquímicas que finalmente producirán los precursores del sabor. Es tan importante el secado como una buena fermentación. El contenido de humedad de los granos secos no debe ser mayor al 8 % por la propensión de los granos a enmohecerse, tampoco debe estar por debajo del 6 %, ya que los granos se vuelven frágiles y quebradizos. Durante esta etapa se forman compuestos responsables del aroma y disminuye la acidez volátil, indicador de buena calidad. (Cubillos, 2008).

### **Secado natural**

El secado se realiza normalmente al sol sobre plataformas de madera. Para que el proceso sea uniforme, el primer día los granos se deben revolver con poca frecuencia y en los días siguientes con mayor frecuencia hasta terminar el proceso. La principal característica de la finalización de esta etapa de forma cualitativa es el resquebrajamiento o crujido que se siente al presionar un puñado de los granos en las primeras horas de la mañana. Al terminar el secado, en el interior de los granos se desarrolla la estructura arriñonada y el color pardo típico del cacao bien beneficiado (Cubillos, 2008).

Secado artificial En algunas regiones (Arauca, por ejemplo), la época de cosecha coincide con la temporada de invierno y bajo condiciones naturales es difícil secar el cacao debido a la escasa luminosidad. En ese caso hay que emplear un sistema de secado artificial porque de lo contrario el secado al sol sería muy prolongado y los granos correrían el riesgo de contaminarse de hongos deteriorándose su calidad. Por tal motivo deben utilizarse diferentes metodologías como secadores rústicos, lechos fluidizados, hornos entre otros (Cubillos, 2008).

## **Beneficios del cacao para la salud**

El cacao se considera una estimulante debido a la presencia de innumerables sustancias como purinas, alcaloides, teobromina, cafeína, además de esto tiene un alto poder nutricional debido a sus altos niveles de glúcidos, lípidos, proteínas, se reportan 300 compuestos químicamente activos (Araújo & Fernandes, 2014).

Los flavonoides pueden tener un marcado impacto en el estado de ánimo. En primer lugar, afectan los procesos neurofisiológicos asociados a menudo con trastornos del estado de ánimo. En segundo lugar, mejorar los comportamientos que dependen de la motivación y las emociones. En tercer lugar, estimulan el rendimiento cognitivo y el flujo sanguíneo cerebral. En cuarto lugar, tienen propiedades antidepresivas en modelos de comportamiento de los animales (Smith, 2013).

El cacao es una fuente importante de flavonoides, principalmente flavonoides, epicatequina y catequina y de baja masa molar, procianidina tal como procianidina B1 y B2, metilxantinas, principalmente teobromina y cafeína), y magnesio; todas son sustancias biológicamente activas que pueden afectar positivamente la salud humana. El cacao es también una fuente importante de fibra dietaria (DF), en contraste con el chocolate. Los efectos cardioprotectores de cacao están bien establecidos con varios exámenes exhaustivos publicados han demostrado que pueden mejorar potencialmente la salud, los fabricantes de cacao están produciendo nuevos productos de cacao funcionales enriquecidos con compuestos bioactivos, con bajos niveles de grasa y azúcar (Sarriá, 2015). Diversas investigaciones han descrito que cuando el chocolate es industrializado su contenido de glúcidos y lípidos puede considerarse como peligroso para la salud, por esto se recomienda consumir en bajas cantidades, sin embargo en los granos de cacao sin transformar se ha sugerido que mejoran la presión sanguínea, la agregación plaquetaria y la función endotelial (Kerimi & Williamson, 2015).

## **Medios de cultivo**

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de estos es tan grande que la variedad de medios de cultivo es enorme, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos, ni siquiera refiriéndonos a las bacterias con exclusividad. Algunos de los constituyentes habituales de los medios de cultivo son: agar, el cual se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo. En el agar bacteriológico el componente dominante es un polisacárido que se obtiene de ciertas algas marinas y que presenta la indudable ventaja de que a excepción de algunos microorganismos marinos, no es utilizado como nutriente. Un gel de agar al 1-2 % se licua alrededor de los 100 °C y se gelifica alrededor de los 40 °C, dependiendo de su grado de pureza. Extractos, el cual su preparación consiste en que ciertos órganos o tejidos animales o vegetales (p.e. carne, hígado, cerebro, semillas, etc.) son extraídos con agua y calor y

posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo. Estos preparados deshidratados son a menudo empleados en la elaboración de los medios de cultivo. Los más utilizados son el extracto de carne, de levadura y el de malta. Las peptonas son mezclas complejas de compuestos orgánicos, nitrogenados y sales minerales, que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales (soja caseína carne, etc.). Las peptonas son muy ricas en péptidos y aminoácidos, pero pueden ser deficientes en determinadas vitaminas y sales minerales. Los fluidos corporales, con frecuencia es necesario añadir a los medios de cultivo de algunos patógenos sustancias como sangre completa, sangre desfibrinada, plasma o suero sanguíneo, sobre todo para conseguir el primer aislamiento a partir del hospedador. La sangre no puede ser esterilizada, y por tanto debe de ser obtenida en condiciones asépticas directamente de un animal sano, y adicionada al medio de cultivo después de que este haya sido autoclavado. Los fluidos corporales no solo aportan factores de crecimiento sino que también aportan sustancias que neutralizan a inhibidores del crecimiento de algunas bacterias. Un ejemplo podría ser la catalasa presente en las células sanguíneas destruye el peróxido de hidrógeno que algunas bacterias que no poseen este enzima acumulan como producto del metabolismo del oxígeno. También se utilizan los sistemas amortiguadores para mantener el pH dentro del rango óptimo del crecimiento bacteriano a veces, es necesario añadir algunos componentes al medio de cultivo. Debido a que la mayoría de las bacterias son neutrófilas, se suelen emplear sales del tipo de los fosfatos bisódicos o bipotásicos u otras sustancias como las peptonas para prevenir la desviación del pH. Los indicadores de pH, el objeto de poder detectar variaciones en el pH debido a fermentaciones u otros procesos, se hace necesario a veces añadir indicadores ácido-base que nos lo indiquen. Los agentes reductores son el objetivo de crear en los medios de cultivo condiciones que permitan el desarrollo de los gérmenes microaerófilos o anaerobios se añaden estos agentes reductores siendo, los más empleados la cisteína y el tioglicolato entre otros. Los agentes selectivos, la adición de determinadas sustancias a un medio de cultivo puede convertirlo en selectivo. Así, por ejemplo, la adición de cristal violeta, sales biliares, azida sódica, telurito potásico, antibióticos, etc., a la concentración adecuada hará que actúen como agentes selectivos frente a determinados microorganismos. (Ugr, s.f.)

Existen distintos tipos de medios de cultivo, los medios generales, que son aquellos que permiten el crecimiento de una gran variedad de microorganismos. Los medios de enriquecimiento que son aquellos que favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás. Los medios selectivos, son aquellos que permiten el crecimiento de un tipo de microorganismos determinado, inhibiendo el desarrollo de los demás. Los medios diferenciales son aquellos en los que se pone de manifiesto propiedades que un determinado tipo de microorganismos posee. (Ugr, s.f.)

Preparación de medios de cultivo:

En la actualidad, la mayoría de los medios de cultivo se encuentran comercializados; normalmente bajo la forma de liofilizados a los que es preciso rehidratar. En estos casos la preparación del medio de cultivo se reduce sencillamente a pesar la cantidad deseada del mismo y disolver en agua destilada siguiendo las instrucciones del fabricante. Las sustancias termolábiles, se esterilizan por filtración y se añaden al resto de los componentes después de

que estos hayan sido previamente esterilizados en el autoclave y enfriados a temperatura ambiente o a 40 - 50 °C si se trata de medios con agar. (Urg, s.f.)

Antes de su esterilización los medios líquidos se reparten en los recipientes adecuados (tubos, matraces, etc.). Si es un medio sólido y se ha de distribuir en tubos o en matraces será necesario fundir el agar en baño María u horno microondas, una vez fundido y homogenizado, se distribuye en caliente a los tubos o matraces (no en placas Petri) se tapa y se esteriliza en la autoclave. Una vez finalizada la esterilización los medios se dejarán enfriar a temperatura ambiente y en el caso de medios sólidos contenidos en tubos deberán, en su caso, inclinarse para que al solidificarse adopten la forma de agar inclinado o pico de flauta (slant) si tal es su finalidad. (Urg, s.f.)

Las placas de Petri se preparan vertiendo el medio fundido y estéril dentro de ellas y en un ambiente aséptico (por ejemplo en la proximidad de la llama de un mechero Bunsen) es conveniente homogeneizar el medio en el transcurso de la operación para evitar que el agar sedimente en el fondo del recipiente y no se distribuya por igual en todas las placas. También es posible conservar el medio destinado a preparar placas Petri solidificado y estéril en tubos que se fundirán al baño María en el momento de la preparación de las mismas. Los caldos y medios sólidos pueden conservarse, una vez esterilizados, a temperatura ambiente pero para reducir su deshidratación y el consiguiente cambio en las concentraciones de sus componentes es preferible conservarlos a 4 °C. (Urg, s.f.)

La técnica de siembra en estría es usada para aislar cepas puras en una placa Petri a partir de un inóculo o muestra con diferentes especies. La técnica consiste en, mediante un asa de siembra previamente esterilizada, rayar la superficie de cultivo de una placa Petri de forma que en cada pasada sea menor el número de células depositado, las últimas pasadas deberán depositar un número tan bajo de células que, una vez incubadas, se forman colonias puras. (CG, 2013)

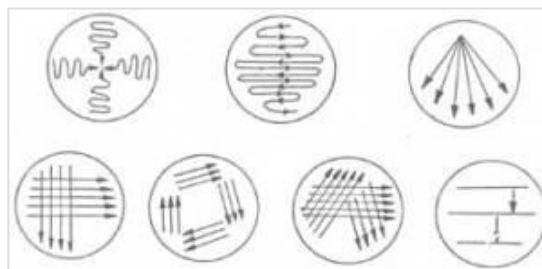


Imagen 1

### Listeria monocytogenes

La *listeria* es una bacteria que puede generar una enfermedad transmitida por alimentos (ETA) llamada listeriosis. Dicha bacteria se encuentra en el suelo, el agua y en algunos animales, entre los que se encuentran las aves de corral y el ganado. Puede estar presente en una gran variedad de alimentos, incluyendo especialmente leche cruda, alimentos elaborados con ella y carnes procesadas. Puede subsistir en plantas de procesamiento de alimentos y contaminar los que allí se producen. La contaminación puede ocurrir en el proceso de

elaboración, empaque o en el almacenamiento de los alimentos. (Intendencia de Montevideo, 2019)

La *listeria* se diferencia de muchos otros gérmenes por reproducirse incluso a las bajas temperaturas del refrigerador. Mediante la cocción o la pasteurización se elimina a la bacteria. La enfermedad afecta principalmente a adultos mayores, mujeres embarazadas, recién nacidos y personas con el sistema inmunológico debilitado. Las mujeres embarazadas infectadas con esta bacteria pueden experimentar una enfermedad leve similar a la gripe, sin embargo la listeriosis puede causar aborto, parto prematuro, enfermedades graves o la muerte del feto. La infección con *listeria* puede ser seguida de meningitis (una infección del cerebro o de los tejidos circundantes) y/o septicemia (infección del torrente sanguíneo); cualquiera de estos pueden causar la muerte. (Intendencia de Montevideo, 2019)

Para la determinación de esta bacteria se utiliza palcam, la cual suministra los nutrientes y cofactores necesarios para el crecimiento de *Listeria*. Se logra selectividad en el medio mediante la presencia de cloruro de litio, sulfato de polimixina B, acriflavina-HCl y ceftazidima, que suprime el crecimiento de la mayoría de los organismos diferentes de las especies de *listeria* presentes en alimentos y muestras clínicas. La concentración de ceftazidima se reduce de 20 mg/L a 8 mg/L para mejorar el crecimiento y la recuperación de *listeria*. La diferenciación en el medio palcam se basa en la hidrólisis de esculina y la fermentación del manitol. Todas las especies de *listeria* hidrolizan la esculina, como lo demuestra el oscurecimiento del medio. (BD, 2003)

El producto de la hidrólisis, la esculina (6,7-dihidroxicumarina), reacciona con iones férricos hasta producir un complejo de marrón a negro. A veces pueden crecer en este medio organismos diferentes de *listeria*, tales como los estafilococos o enterococos. El manitol y el indicador de pH, el rojo fenol, se han añadido para diferenciar las cepas fermentadoras de manitol de las especies de *listeria*. La fermentación de manitol se demuestra por un cambio de color del medio de rojo a amarillo debido a la producción de ácidos. (BD, 2003)

## **Lípidos**

Así como para otras biomoléculas resulta fácil establecer una definición desde el punto de vista químico, en el caso de los lípidos esta tarea entraña una mayor dificultad, ya que constituyen un grupo de sustancias químicamente muy heterogéneo que no se caracteriza, como otras biomoléculas, por la posesión de un determinado conjunto de grupos funcionales. Por ello, resulta mucho más conveniente identificarlos sobre la base de una de sus propiedades físicas: su mayor o menor solubilidad en distintos tipos de solventes. Así, se considera que los lípidos son un grupo de biomoléculas que se caracterizan por ser poco o nada solubles en agua y, por el contrario, muy solubles en solventes orgánicos no polares. Aunque químicamente heterogéneos, todos presentan un denominador común estructural: la totalidad, o al menos una parte significativa, de su molécula es de naturaleza hidrocarbonada, y por lo tanto apolar. Este rasgo estructural común es el responsable de su insolubilidad en agua y de su solubilidad en solventes no polares. Los lípidos desempeñan en las células vivas una gran variedad de funciones, entre las que destacan las de carácter energético y estructural.

La clasificación de los lípidos también resulta problemática, dadas las características químicas tan diversas que poseen. Adoptaremos una de las más comunes, que divide a los lípidos en dos grandes categorías: lípidos saponificables, que contienen ácidos grasos unidos a algún otro componente, generalmente mediante un enlace tipo éster, y lípidos no saponificables, que no contienen ácidos grasos, aunque también incluyen algunos derivados importantes de éstos (Bionova, s.f).

Aunque la mayoría de los lípidos tienen masas molares relativamente bajas, se suelen incluir, de una manera un tanto arbitraria, entre las macromoléculas. Debemos recordar que las macromoléculas están formadas por unidades monoméricas relativamente simples llamadas sillares estructurales. Las unidades monoméricas o sillares estructurales que con más frecuencia aparecen formando parte de los lípidos, aunque no están presentes en todos ellos, son los ácidos grasos. En la anterior clasificación no se han incluido los ácidos grasos, ya que éstos apenas se encuentran en la naturaleza en estado libre, sino formando parte de distintos tipos de lípidos (Bionova, s.f).

### **Índice de saponificación**

Es la masa (expresada en miligramos de hidróxido de potasio) necesarios para saponificar completamente un gramo de grasa. La saponificación se fundamenta esencialmente en una hidrólisis alcalina de los ésteres glicéridos de ácidos grasos presentes en una sustancia grasa, con la consecuente formación de un jabón (Arriola, 2003).

Este varía para cada grasa o aceite en particular. Este dato se obtiene a partir de complejos cálculos, que se simplifican con el uso de tablas existentes. (EcuRed, s.f.)

En estas tablas se registran los índices de saponificación de las sustancias, es decir la masa expresada en miligramos de hidróxido de sodio o potasio, que necesitan para saponificar cada una de ellas, según la sustancia utilizada en la obtención del jabón (EcuRed, s.f.).

A continuación se muestra los índices de saponificación de algunos de los aceites y grasas, empleados frecuentemente, en la fabricación de jabones:

Tabla 1

ACEITES GRASOS	VALOR IS NaOH	VALOR IS KOH
Aceite de Oliva	0,136	0,190
Aceite de Girasol	0,137	0,192
Aceite de Aguacate	0,133	0,187
Aceite de Almendras Dulces	0,138	0,192
Manteca de Cacao	0,137	0,193
Manteca de Coco	0,184	0,266
Aceite de Sésamo	0,134	0,187
Aceite de Soja	0,136	0,190
Aceite de Ricino	0,129	0,179
Aceite de Palma	0,146	0,199
Lanolina	0,076	0,106
Aceite de Jojoba	0,066	0,098
Aceite de Germen de Trigo	0,134	0,185
Aceite de Caléndula	0,136	0,190

En la reacción de saponificación, un mol de grasa reacciona con tres moles de KOH, cada mol de grasa consumirá 168,000 mg de KOH y por consiguiente, el IS de una grasa = 168,000/Masa molar de la grasa. Es decir, el Índice de saponificación de una grasa es inversamente proporcional a su masa molar. (Rodríguez, 2016)

Si a partir del IS de una grasa se determina la masa molar promedio de sus triglicéridos constituyentes, al dividir esa cifra entre tres, se conocerá la masa molar promedio de los ácidos grasos que contiene. (Rodríguez, 2016)

### **Método de Soxhlet**

La extracción Soxhlet ha sido (y en muchos casos, continúa siendo) el método estándar de extracción de muestras sólidas más utilizado desde su diseño en el siglo pasado, y actualmente, es el principal método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción. Además de muchos métodos de la EPA (U.S. Environmental Protection Agency) y de la FDA (Food and Drugs Administration) utilizan esta técnica clásica como método oficial para la extracción continua de sólidos. En este procedimiento la muestra sólida finamente pulverizada se coloca en un cartucho de material poroso que se sitúa en la cámara del extractor Soxhlet. Se calienta el solvente extractante, situado en el matraz, se condensan sus vapores que caen, gota a gota, sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo los analitos solubles. Cuando el nivel del solvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el solvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el solvente (Ciencias Ambientales, 2004).

La extracción con Soxhlet presenta las siguientes ventajas:

- La muestra está en contacto repetidas veces con porciones frescas de solvente.
- La extracción se realiza con el solvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos.
- No es necesaria la filtración después de la extracción.
- La metodología empleada es muy simple.
- Es un método que no depende de la matriz.
- Se obtienen excelentes recuperaciones, existiendo gran variedad de métodos oficiales cuya etapa de preparación de muestra se basa en la extracción con Soxhlet.

Por otra parte, las desventajas más significativas de este método de extracción son:

- El tiempo requerido para la extracción normalmente está entre 6-24 horas.
- La cantidad de solvente orgánico (50-300 mL)
- La descomposición térmica de los analitos termolábiles, ya que la temperatura del solvente orgánico está próxima a su punto de ebullición.
- No es posible la agitación del sistema, la cual podría acelerar el proceso de extracción.
- Es necesaria una etapa final de evaporación del solvente para la concentración de los analitos.
- Esta técnica no es fácilmente automatizable.



La extracción Soxhlet es la técnica de separación sólido-líquido comúnmente usada para la determinación del contenido graso en muestras de diferente naturaleza. De igual modo, puede ser usada como técnica preparativa de muestra como paso previo al análisis mediante otra técnica instrumental, por ejemplo, la extracción de ácidos grasos en muestras de tocino para su posterior determinación mediante cromatografía de gases. Aunque su campo de aplicación es fundamentalmente el agroalimentario es también de utilidad en el área medioambiental, así es el método de análisis recomendado para la determinación del aceite y la grasa total recuperable en aguas de vertidos industriales permitiendo la determinación de hidrocarburos relativamente no volátiles, aceites vegetales, grasas animales, ceras, jabones y compuestos relacionados. Como ya hemos comentado, el contenido de materia grasa es uno de los parámetros analíticos de interés en los productos destinados a la alimentación, tanto humana como animal, y, en consecuencia, su determinación es muy habitual. El procedimiento para llevar a cabo su extracción se basa en la extracción sólido-líquido en continuo, empleando un solvente, con posterior evaporación de éste y pesada final del residuo. El resultado representa el contenido de sustancias extraíbles, que mayoritariamente son grasas, aunque también hay otras sustancias como las vitaminas liposolubles y pigmentos en el caso de su determinación en alimentos. El procedimiento puede aplicarse a distintos tipos de alimentos sólidos. Tiene una importancia esencial que la muestra sea anhidra (que esté seca), porque el éter dietílico se disuelve parcialmente en agua, que a su vez extraerá azúcares entre otros compuestos, lo que puede ser fuente de error. (Ciencias Ambientales, 2004).



Imagen 3

## Ácidos Grasos

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos de cadena larga. Por lo general, contienen un número par de átomos de carbono, normalmente entre 12 y 24. Ello se debe a que su síntesis biológica tiene lugar mediante la aposición sucesiva de unidades de dos átomos de carbono. Sin embargo, también existen ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono, que probablemente derivan de la metilación de un ácido graso de cadena par (Ehu, s.f.).

Las propiedades químicas de los ácidos grasos derivan por una parte, de la presencia de un grupo carboxilo, y por otra parte de la existencia de una cadena hidrocarbonada. La coexistencia de ambos componentes en la misma molécula, convierte a los ácidos grasos en

moléculas débilmente anfipáticas (el grupo COOH es hidrofílico y la cadena hidrocarbonada es hidrofóbica) (Ehu, s.f.).

El carácter anfipático es tanto mayor cuanto menor es la longitud de la cadena hidrocarbonada. La solubilidad en agua decrece a medida que aumenta la longitud de la cadena. El grupo carboxílico de la molécula convierte al ácido graso en un ácido débil (con un pKa en torno a 4,8) (Ehu, s.f.).

También presenta las reacciones químicas propias del grupo COOH: esterificación con grupos OH alcohólicos, formación de enlaces amida con grupos NH<sub>2</sub>, formación de sales (jabones), etc. El grupo COOH es capaz de formar puentes de hidrógeno, de forma que los puntos de fusión de los ácidos grasos son mayores que los de los hidrocarburos correspondientes (Ehu, s.f.).

Según la naturaleza de la cadena hidrocarbonada, distinguimos tres grandes grupos de ácidos grasos:

- ÁCIDOS GRASOS SATURADOS
- ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS
- DERIVADOS DE ÁCIDOS GRASOS (Ehu, s.f.).

## **Fósforo**

El fósforo es un mineral que constituye el 1 % de la masa corporal total de una persona. Es el segundo mineral más abundante en el cuerpo. Está presente en cada célula del cuerpo. La mayor parte del fósforo en el organismo se encuentra en los dientes y en los huesos. La principal función del fósforo es la formación de huesos y dientes. Este cumple un papel importante en la forma como el cuerpo usa los glúcidos y las grasas. También es necesario para que el cuerpo produzca proteína para el crecimiento, conservación y reparación de células y tejidos. Asimismo, el fósforo ayuda al cuerpo a producir ATP, una molécula que el cuerpo utiliza para almacenar energía. El fósforo trabaja con las vitaminas del complejo B. También ayuda con lo siguiente: funcionamiento de los riñones, contracción de músculos, palpitations normales, señales nerviosas. (MedlinePlus , s.f.)

El chocolate es rico y saludable, siempre y cuando sea consumido de forma adecuada y en cantidades reducidas. Tiene un gran contenido en fósforo, ya que sube a casi 270 miligramos, sobre una base de 100 gramos. El cacao en polvo se va hasta los 900 miligramos. De ese modo, una pequeña porción de chocolate nos daría un buen aporte. (Álamo, 2017)

## **Espectrofotómetro**

El espectrofotómetro es un instrumento que tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática (de un largo de onda particular) a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra (EcuRed, s.f.).



Imagen 4

Nos da información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra. Esto podemos lograrlo midiendo la absorbancia ( $A$ ) a distintos largos de onda ( $\lambda$ ) y graficar estos valores en función del largo de onda, formando un espectrograma. Como cada sustancia tiene unas propiedades espectrales únicas, distintas sustancias producen distintos espectrogramas. Esto se debe a que cada sustancia tiene un arreglo de átomos tridimensional particular que hace que cada sustancia tenga características únicas. Al ser expuestos a la luz del espectrofotómetro, algunos electrones de los átomos que forman las moléculas absorben energía entrando a un estado alterado. Al recuperar su estado original, la energía absorbida es emitida en forma de fotones. Esa emisión de fotones es distinta para cada sustancia, generando un patrón particular, que varía con el largo de onda usado. Dependiendo del largo de onda, será la cantidad de energía absorbida por una sustancia, lo que logra generar un espectro particular al graficar  $A$  vs  $\lambda$  (EcuRed s.f.).

Nos dice cuánta cantidad de la sustancia que nos interesa está presente en la muestra. La concentración es proporcional a la absorbancia, según la Ley Beer-Lambert: a mayor cantidad de moléculas presentes en la muestra, mayor será la cantidad de energía absorbida por sus electrones. (EcuRed s.f.)

El espectrofotómetro mide la absorbancia de una muestra en los espectros de luz ultravioleta y visible (200 a 850 nm). El largo de onda es determinado por un prisma que descompone el rayo de luz de acuerdo al largo de onda escogido. Luego la luz pasa por una hendidura que determina la intensidad del haz. Este haz atraviesa la muestra y llega a un tubo fotográfico, donde es medido. La cantidad de luz que atraviesa la muestra es el porcentaje (%) de transmitancia. (EcuRed, s.f.)

El espectrofotómetro nos puede dar ambos valores a la misma vez, ahorrando la necesidad de hacer los cálculos. (Transmitancia = cantidad de luz que atraviesa la mezcla). Una característica del instrumento es la necesidad de "blanquear" el aparato antes de cada lectura. Esto se hace colocando una cubeta con una solución control que tenga todos los componentes de la reacción menos la sustancia que va a ser medida en el instrumento y ajustando la lectura a cero absorbancia. El propósito de esto es eliminar el registro de absorbancia (background)

que puedan presentar los demás componentes de la reacción a ese largo de onda particular. Todas las moléculas presentan absorbancia porque todas interfieren con el paso de la luz. Sólo que la absorbancia será óptima a un largo de onda de luz específico para cada tipo de sustancia. (EcuRed s.f.)

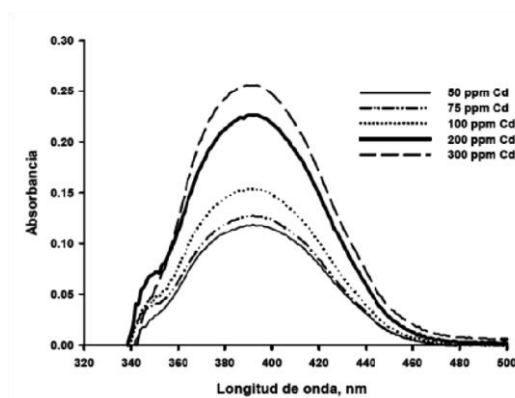


Imagen 5

El método se basa en la reacción del ión fosfato con molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) que da lugar a fosfomolibdato ( $[\text{PO}_4\text{12MoO}_3]^{3-}$ ). Este último por reducción origina un compuesto cuya estructura exacta se desconoce, denominado “azul de molibdeno”. Como reductores se pueden utilizar muchos compuestos, de los cuales el ácido ascórbico es uno de los más empleados. Mediante espectrofotometría se podrá utilizar la coloración del azul de molibdeno, eligiendo una longitud de onda en donde la absorbancia sea máxima. (Calastretti & Molina, 2016)

Si bien se desconoce la fórmula exacta del azul de molibdeno, según la enciclopedia de química online de Chemiday, el ácido fosfórico reacciona con molibdato de amonio y ácido nítrico de la siguiente manera:



Jiménez firma que: “Se puede utilizar  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$  o  $\text{HNO}_3$  debido a que la concentración ácida no es crítica para la determinación” (como se citó en Calastretti & Molina, 2016).

## **Metodología**

### **Plan de muestreo**

#### **Determinación de Cenizas**

1. Se realizó el análisis por duplicado de cada lote, reportándose el promedio de las tres mediciones, referido al porcentaje (100 g de muestra inicial).
2. Se midió la masa de 10 g de muestra original de chocolate en un crisol previamente masado. Posteriormente el crisol con la muestra fue colocado en la mufla a una temperatura de 150 °C por 10 min, 250 °C por 20 min, 450 °C por 10 min y 625 °C por 3 horas.
3. Al terminar se verificó que el contenido del crisol sea solo cenizas (muestra color blanca) para luego colocarlo en un desecador por unos minutos, tras lo cual se efectuó la medición de su masa.

#### **Determinación de fósforo:**

Para la determinación de fósforo se utilizó el método espectrofotometría.

Diluciones necesarias:

Solución de Molibdato:

1. Se masó 2,5 g de molibdato de amonio.
2. Se colocó en un matraz aforado de 100,00 mL.
3. Luego se disolvió en agua destilada y se le colocó 30 mL de ácido sulfúrico 5 mol/L.
4. Se enrasó y homogeneizó.

Solución reductora (Ácido ascórbico):

1. Se masó 1 g de ácido ascórbico.
2. Se colocó en un matraz de 100,00 mL.
3. Se enrasó y homogeneizó.

Solución de fósforo:

1. Se masó 1,4 g de la muestra de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
2. Se colocó en un matraz aforado de 500,00 mL.

3. Luego se le colocó 2 mL de HCl.
4. Se enrasó y se homogeneizó.

#### Curva de calibración:

1. Se colocó la cantidad deseada de solución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en un matraz aforado de 100,00 mL.
2. Se le colocó 5 mL de solución de molibdato de amonio y 3 mL de solución reductora.
3. Se enrasó y se dejó reposar 6 minutos.
4. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 660 nm.
5. Se graficó la curva de calibración.

#### Determinación de fósforo:

1. Se masó 0,5 g de cenizas de chocolate.
2. Se preparó una solución con agua destilada en un matraz aforado de 100,00 mL (muestra).
3. Se hizo una dilución de la muestra con una toma de 10,00 mL.
4. Se agregó 5 mL de solución de molibdato de amonio y 3 mL de solución reductora.
5. Se enrasó y se dejó reposar 6 minutos.
6. Se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 660 nm.
7. Se determinó la concentración de fósforo por la ecuación de la recta.

### **Determinación de Grasas Totales**

Para la determinación de grasas se utilizó el método de Soxhlet.

1. Se realizó el análisis duplicado de cada lote, reportándose el promedio de los dos resultados, expresados como porcentaje (100 g de muestra inicial).
2. Para esta determinación, se prepararon 2 cartuchos de papel filtro, cuyas dimensiones fueron las más adecuadas para poder ser colocados dentro del sistema Soxhlet.
3. Se midió la masa 2 g de muestra original de chocolate en cada cartucho, previamente tarado, para luego cerrar los mismos y colocar cada uno dentro de un sistema diferente.
4. Posteriormente se procedió a armar el sistema de Soxhlet con los balones vacíos previamente masados y se midieron 190 mL de éter petróleo en una probeta, para luego verterlos en cada uno de los balones; se cerró el sistema completamente y se colocó sobre una manta de calentamiento por 4 horas bajo una campana de extracción.
5. A continuación, se inició el flujo de agua por los condensadores, colocados en línea, y se prendió la plancha a temperatura media y la campana de extracción.
6. Al terminar el proceso se retiró cada sistema de la fuente de calor, asegurando que todo el éter de petróleo de cada sistema haya regresado al balón.

- Posteriormente se llevó el balón al rotavapor para eliminar solvente el éter petróleo hasta sequedad completa, luego se dejó los balones en la estufa a 100 °C por unas horas, asegurando la eliminación total del éter de petróleo del balón y después se colocaron los balones en el desecador para su enfriamiento.

**Determinación del índice de saponificación:**

- Se partió de la grasa obtenida de la muestra del sistema Soxhlet.
- Se añadió 25,00 mL de forma exacta de hidróxido de potasio al 0,5 mol/L.
- Se llevó a sistema refrigerante y se mantuvo hasta los 60 minutos.
- Se retiró del calor y se le agregó 3 o 4 gotas del reactivo fenolftaleína.
- Se armó el dispositivo de valoración y se valoró la muestra con ácido clorhídrico al  $(0,48959 \pm 0,00081)$  N estándar.
- Se realizó un ensayo en blanco con las mismas condiciones.

**Determinación de listeria monocytogenes:**

- Se fundió 1,0 g de la muestra en un vaso de bohemia, en plancha. *Con mucho cuidado de que no se queme.*
- Se flameó el asa de siembra en un mechero para su esterilización.
- Se realizó una estría inicial en la esquina de la placa de agar.
- Luego las estrías siguientes se realizaron formando ángulos con las estrías iniciales.
- Se incubó el medio PALCAM Listeria Agar inoculado en atmósfera aerobia durante 18 - 24 h a 35 – 37 °C. En caso de resultado negativo, se incubaba nuevamente durante 24 h más.

**Resultados**

**Determinación de Cenizas:**

Tabla 2

Chocolate 70 %	Chocolate 40 %
$(2,142 \pm 0,009)\%$	$(1,565 \pm 0,004) \%$

Disposiciones generales para chocolates (DECRETO 315/994, Reglamento Bromatológico Nacional)

21.2.12. Excepto en aquellos productos en que se establezca un valor diferente para lípidos y cenizas totales, las características generales de todos los tipos de chocolates son las siguientes:

Humedad            máx. 3 % m/m  
 Lípidos del cacao    min. 16 % m/m  
 Cenizas totales    máx. 2.5 % m/m

Los aditivos alimentarios a utilizar son los que se establecen en la lista positiva de aditivos alimentarios. (DECRETO 315/994, Reglamento Bromatológico Nacional)

Con este decreto podemos decir que el chocolate con mejor calidad es el chocolate 70 % cacao, frente al chocolate 40 % cacao.

**Determinación de fósforo:**

Curva de calibración:

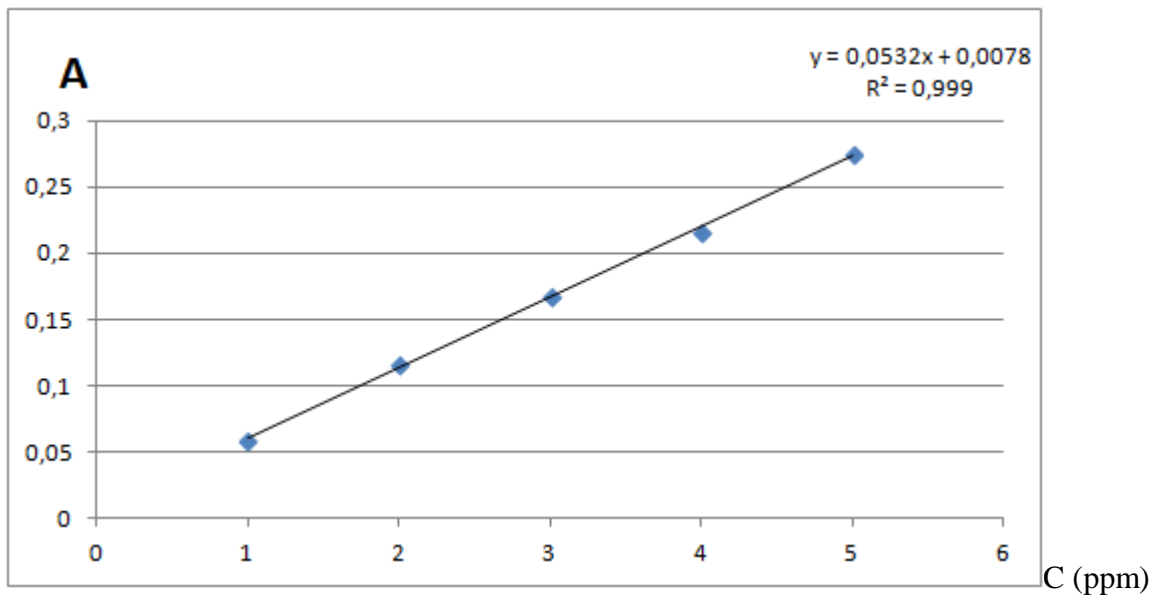


Tabla 3

Chocolate:	Concentración de fósforo
70 %	(1,17 ± 0,01) ppm
40 %	(1,30 ± 0,01) ppm



**Determinación de Grasas Totales:**

Tabla 4

Muestra	Chocolate 70 %	Chocolate 40 %
1	(49,26 ± 0,30) %	(38,54 ± 0,27) %

**Determinación del índice de saponificación:**

Tabla 5

Muestra	Chocolate 70 %	Chocolate 40 %
1	(11,12 ± 0,10) mg KOH/g	(24,92 ± 0,23) mg KOH/g

- El chocolate 40 % cacao tiene distintos ácidos grasos, son los siguientes: -Ácido palmítico, -Ácido linoleico, -Ácido oleico, -Ácido esteárico, -Acido mirístico, -Ácido palmitoleico y -Ácido  $\alpha$ -Linoleico.

-El chocolate 70 % cacao tiene distintos ácidos grasos, son los siguientes: -Ácido palmítico, -Ácido linoleico, -Ácido oleico, -Ácido esteárico.

Los resultados son distintos ya que el chocolate 40 % cacao es un chocolate con contenido de leche y este mismo contiene otros triglicéridos que son proporcionados por la leche, estos mismos reaccionan con el KOH, en comparación del chocolate 70 % cacao.

**Determinación de listeria monocytogenes:**

Durante las primeras 24 horas de incubación no se observó crecimiento de *listeria monocytogenes*, se dejó incubar por 24 horas más y la condición de las placas fue la misma.

## Discusión

Nutrition Facts	
Serving Size 6 pieces (30g) Servings Per Container About 3	
Amount Per Serving	Calories from Fat 80
<b>Calories 150</b>	
<b>Total Fat</b> 2g	%Daily Value*
Saturated Fat 5g	13%
Sodium 5mg	27%
<b>Total Carbohydrate</b> 16g	0%
Dietary Fiber 3g	5%
Sugars 11g	12%
<b>Protein</b> 2g	
<b>Calcium</b> 2%	
<b>Iron</b> 15%	

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL / INFORMACIÓN NUTRICIONAL		
Porção/Porción de 25g (5 quadradinhos)/(5 cuadraditos)		
	Quantidade por porção / Cantidad por porción	% VD (*)
Valor Energético	125kcal = 524kJ	6
Carboidratos/ Carbohidratos	13g	4
Proteínas	1,4g	2
Gorduras Totais / Grasas Totales	7,3g	13
Gorduras Saturadas / Grasas Saturadas	4,4g	20
Fibra Alimentar/ Fibra Alimentaria	2,5g	10
Sódio/ Sodio	5,2mg	0

Nota: Não contém quantidades significativas de Gorduras Trans. / No aporta cantidades significativas de Grasa Trans.

Imagen 6.

**CHOCOLATE AMARGO**

Importa: Leopoldo Gross y Asociados S.A. Venezuela 1211  
 IM SRA 11913/2076 Elaborado por Lindt & Sprüngli SAS  
 FR - 64400 Oloron - Sainte - Marie Fabricado en Francia  
 Peso neto: 100g Vence: ver envase

**INGREDIENTES:** Masa de cacao, azúcar, manteca de cacao, aromatizante: vainillina.

**INFORMACIÓN NUTRICIONAL:** Porción 25g (3 bloques). Valor energético 142kcal = 596kJ (7%VD\*). Carbohidratos 8.3g (3%VD), Proteínas 2.4g (3%VD), Grasas totales 10g (18%VD), Grasas saturadas 6.0g (27%VD), Sodio 10mg (1%VD)

No aporta cantidades significativas de grasas trans ni fibra alimentaria. \*%Valores diarios con base a una dieta de 2000kcal u 8400kJ. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades energéticas. Art.981920

Imagen 7.

Tabla 7

Análisis	Chocolate 70 %	Chocolate 40 %
Cenizas	(2,142 ± 0,009)%	(1,565 ± 0,004) %
Fósforo	(1,17 ± 0,01) ppm	(1,30 ± 0,01) ppm
Grasas totales	(49,26 ± 0,30) %	(38,54 ± 0,27) %
Índice de saponificación	(11,12 ± 0,10) mg KOH/g	(24,92 ± 0,23) mg KOH/g
<i>Listeria monocytogenes</i>	ausencia	ausencia

A partir de los resultados obtenidos se pudieron conocer algunos de los parámetros de la composición nutricional de distintas marcas comerciales de chocolate en el año 2020.

## Conclusiones

Los resultados de los análisis fueron los siguientes: Chocolate 70 %: cenizas ( $2,142 \pm 0,009$ ) %; fósforo ( $1,17 \pm 0,01$ ) ppm; grasas totales ( $49,26 \pm 0,30$ ) %; índice de saponificación ( $11,12 \pm 0,10$ ) mg KOH/g; y ausencia de *listeria monocytogenes*. Chocolate 40 %: cenizas ( $1,565 \pm 0,004$ ) %; fósforo ( $1,30 \pm 0,01$ ) ppm; grasas totales ( $38,54 \pm 0,27$ ) %; índice de saponificación ( $24,92 \pm 0,23$ ) mg KOH/g; y ausencia de *listeria monocytogenes*. En base a los resultados mencionados anteriormente se puede concluir que varía la concentración de fósforo e índice de saponificación en dos marcas diferentes (de diferentes concentraciones de manteca y pasta de cacao) de chocolate comercializadas en Uruguay, esto se debe a que el chocolate 40 % cacao es un chocolate con contenido de leche y este mismo contiene otros triglicéridos que son proporcionados por la leche, estos mismos reaccionan con el KOH, en comparación del chocolate 70 % cacao y la ausencia de *listeria monocytogenes* no varía en ninguno de los chocolates analizados.

## Bibliografía

Amores, F., Palacios, A., Jiménez, J., & Zhang, D. (2009). Entorno ambiental, genética, atributos de calidad y singularización del cacao en el nororiente de la provincia de esmeraldas, 120 (Boletín Técnico, 135). 41

Araujo, Q. R., a.F. Fernandes, C., Ribeiro, D. O., Efraim, P., Steinmacher, D., Lieberei, R.,... Araujo, T. G. (2014). Cocoa Quality Index – A proposal. Food Control, 46, 49–54. <http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.003> 7

Bhagwat, S., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2013). USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods Prepared by. USDA Agricultural Research Service, 14.

Board on the word cocoa economy. (2009). guidelines on best known practices in the cocoa value chain. 8

Borbor, F. y Vera, M. 2007. Manual del cultivo de cacao para productores. Unidad ejecutora del programa Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones CORPEI, y Co – ejecutor Asociación Nacional de Exportadores de cacao Anecacao. Enero del 2007. Guayaquil, Ecuador. 47

Cubillos, G., Merizalde, G. J., & Correa, E. (2008). Manual de beneficio del cacao: técnicos, profesionales del sector agropecuario y productores. 8, 9, 10

Elwers, S., Zambrano, A., Rohsius, C., & Lieberei, R. (2009). Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma*

cacao L.). *European Food Research and Technology*, 229(6), 937–948.  
<http://doi.org/10.1007/s00217-009-1132-9>. 940

Fedecacao. (2005). *Caracterización fisicoquímica y beneficio del grano de cacao (Theobroma cacao L.) en Colombia*.

FAO. (n.d.). *Determinación de nitrógeno total y proteínas. Manuales de calidad de los alimentos* (p. 182).

Federación Nacional de Cacaoteros (2004). *El beneficio y características físico químicas del cacao (Theobroma cacao L.)*

<http://www.fedecacao.com.co/site/index.php/1pub-publicaciones>.

Fedecacao. (2005). *Caracterización fisicoquímica y beneficio del grano de cacao (Theobroma cacao L.) en Colombia*.

Fedecacao, F. N. D. C. (2004). *El beneficio y características físico químicas del cacao (Theobroma cacao L.)*. Retrieved from

<http://www.fedecacao.com.co/site/index.php/1pub-publicaciones.20>

Guehi, S., Dabonne, S., Ban-Koffi, L., Kedjebo, D. K. and Zahouli, G. (2010). Effect of turning beans and fermentation method on the acidity and physical quality of raw cocoa beans. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2, 163–171.

[http://doi.org/http://www.researchgate.net/publication/45087796\\_Effect\\_of\\_Turnin\\_g\\_Beans\\_and\\_Fermentation\\_Method\\_on\\_the\\_Acidity\\_and\\_Physical\\_Quality\\_of\\_Raw\\_Cocoa\\_Beans](http://doi.org/http://www.researchgate.net/publication/45087796_Effect_of_Turnin_g_Beans_and_Fermentation_Method_on_the_Acidity_and_Physical_Quality_of_Raw_Cocoa_Beans) .164

Guerreo, N. M. (2015). *Fondo nacional del cacao Avances en investigación*.4

International Cocoa Organization (ICCO). (2014). *ICCO Annual Report 2012/2013*, 72.  
<http://www.icco.org/> .60

Kerimi, A., & Williamson, G. (2015). The cardiovascular benefits of dark chocolate. *Vascular Pharmacology*. <http://doi.org/10.1016/j.vph.2015.05.011> .3

Landero, E. (2014). *Requerimientos de habilidades técnicas para la renovación de plantaciones de cacao en tabasco, México. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas*.14

Luque-García, J. L., & Luque De Castro, M. D. (2003). Ultrasound: A powerful tool for leaching. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 22(1), 41–47.

[http://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)00102-X](http://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00102-X).43

Mojica, A., Joaquín, P., & Vega, P. (2006). Ensayos sobre economía regional: características del cultivo del cacao en Santander. Bucaramanga. 9

Nazaruddin, Seng, Hassan, & Said, 2006) Fabio Aranzazu H. (2015). Cacao. modelos de siembra en cacao para apoyar los retos de producción y calidad del cacao. viii foro nacional de cacao honduras.

Ortega, N., Romero, M. P., Macio, A., Reguant, J., Angel, N., Morello, J. R., & Motilva, M. J. (2010). Comparative study of UPLC-MS/MS and HPLC-MS/MS to determine procyanidins and alkaloids in cocoa samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(3), 298–305.

<http://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.10.005>

Palacios Cedeño, Á. L. (2008). Establecimientos de parámetros (físicos, químicos y organolépticos) para diferenciar y valorizar el cacao (*theobroma cacao* L.) producido en dos zonas identificadas al norte y sur del litoral ecuatoriano, 136.

Serra, A., Macia, A., Romero, M. P., Piñol, C., & Motilva, M. J. (2011). Rapid

FAO y OMS (1982). <http://www.fao.org/3/a-y4705s/y4705s02.pdf>. Fecha de consulta: 23 de Enero de 2016.

Redgwell, R. J., Trovato, V., & Curti, D. (2003). Cocoa bean carbohydrates: roasting-induced changes and polymer interactions. *Food Chemistry*, 80(4), 511-516.

Taş, N. G., & Gökmen, V. (2015). Effect of alkalization on the Maillard reaction products formed in cocoa during roasting. *Food Research International*.

Extraído el día 07/08/2020 a las 17:00 de

<https://montevideo.gub.uy/areas-tematicas/salud/listeria-monocytogenes>

Extraído el día 7/08/2020 a las 17:20 de

<http://www.ehu.es/biomoleculas/lipidos/lipid31.htm>

Extraído el día 21/08/2020 a las 21:00 de

<https://www.bionova.org.es/biocast/documentos/tema06.pdf>

Arriola G, (2003). recuperado el día 21/08/2020 a las 21:30 de

<http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5600/1/10126050.pdf>

ECURED. (sin fecha). recuperado el día 21/08/2020 a las 22:00 de

<https://www.ecured.cu/Saponificaci%C3%B3n>

ECURED. (sin fecha). recuperado el día 28/08/2020 a las 19:00 de

<https://www.ecured.cu/Espectrofot%C3%B3metro>

BD (junio del 2003) recuperado el día 28/08/2020 a las 21:05 de

<https://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/ES-PA-254539.pdf>

Adrián Contreras Garrido. (mayo 2013). recuperado el día 28/08/2020 a las 21:20 de

<https://seramix.blogs.uv.es/2013/05/02/metodo-de-siembra-en-estria/>

UGR (sin fecha). *Preparación de medios de cultivo*. Recuperado el día 28/08/2020 a las 21:35 de

<https://www.ugr.es/~cjl/medios%20de%20cultivo.pdf>

Ciencias Ambientales. (2004). DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO GRASO DE LECHE EN POLVO: EXTRACCIÓN SOXHLET. Recuperado el día 28/08/2020 a las 21:50 de

[https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/TAQ/curso0405/TAQP5\\_0405.pdf](https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/TAQ/curso0405/TAQP5_0405.pdf)

Alfredo Álamo, (diciembre 2017) recuperado el día 12/11/2020 a las 17:00 de

<https://www.bonviveur.es/preguntas/que-alimentos-contienen-mas-fosforo#:~:text=El%20chocolate%20es%20rico%20y,va%20hasta%20los%20900%20miligramos.>

MedlinePlus, sin fecha, recuperado el día 12/11/2020 a las 17:00 de

<https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002424.htm#:~:text=Funciones,-Expandar%20secci%C3%B3n&text=La%20principal%20funci%C3%B3n%20del%20f%C3%B3sforo.reparaci%C3%B3n%20de%20c%C3%A9lulas%20y%20tejidos.>

Calastretti.M. y Molina. A. (2016) Recuperado el día 14/11/2020 a las 22:00 hs de  
file:///C:/Users/Pc/Desktop/QUIEN%20PARA%20CARPETAS%20EN%20MI%20ESCRITORIO,%20EH/Determinaci%C3%B3n%20de%20f%C3%B3sforo%20en%20polvo%20de%20caso%20comercial.pdf

Rodríguez, 2016, recuperado el día 15/11/2020 a las 00:30 hs de  
<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/2/10/145.pdf>

Reglamento Bromatológico Nacional, 1994, recuperado el día 18/11/2020 a las 19:00hs de  
<https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994/21>

## Anexos

### Ácido Clorhídrico:

Pictogramas de peligro



Palabra de advertencia:

Atención

Indicaciones de peligro:

H290 Puede ser corrosivo para los metales.

H315 Provoca irritación cutánea.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H335 Puede irritar las vías respiratorias.

Consejos de prudencia Intervención

P302 + P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

### Éter de petróleo:

Pictogramas de peligro



Palabra de advertencia:

Peligro

Indicaciones de peligro:

H225 - Líquido y vapores muy inflamables

H315 - Provoca irritación cutánea

H411 - Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos

H304 - Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias

H336 - Puede provocar somnolencia o vértigo

Consejos de prudencia

P301 + P330 + P331 - EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito

P280 - Llevar guantes/ prendas de protección

P302 + P352 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes

P312 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar

P210 - Mantener alejado del calor, superficies calientes, chispas llamas al descubierto y otras fuentes de ignición. No fumar

### Hidróxido de potasio 0,5 mol/L:

Pictogramas de peligro



Palabra de advertencia:

Peligro

Indicaciones de peligro:

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

H290 Puede ser corrosivo para los metales.

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Consejos de prudencia Prevención

P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P240 Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción.

P280 Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección. Intervención



P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito.  
P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.  
P308 + P310 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico

### Ácido Sulfúrico 5 mol/L



Palabra de advertencia

Peligro

Indicaciones de peligro

H290 Puede ser corrosivo para los metales

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves

Consejos de prudencia

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Consejos de prudencia - respuesta

P301+P330+P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P310 Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.

### Molibdato de Amonio



Palabra de advertencia

Atención

Indicaciones de peligro

H302 Nocivo en caso de ingestión H315 Provoca irritación cutánea

H319 Provoca irritación ocular grave

H335 Puede irritar las vías respiratorias

Consejos de prudencia

P280 Llevar guantes/gafas de protección.

P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua y jabón.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado. P337+P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

### **Fenolftaleína:**



Palabra de advertencia

Peligro

Indicaciones de peligro

H341 Se sospecha que provoca defectos genéticos

H350 Puede provocar cáncer

H361f Se sospecha que perjudica a la fertilidad

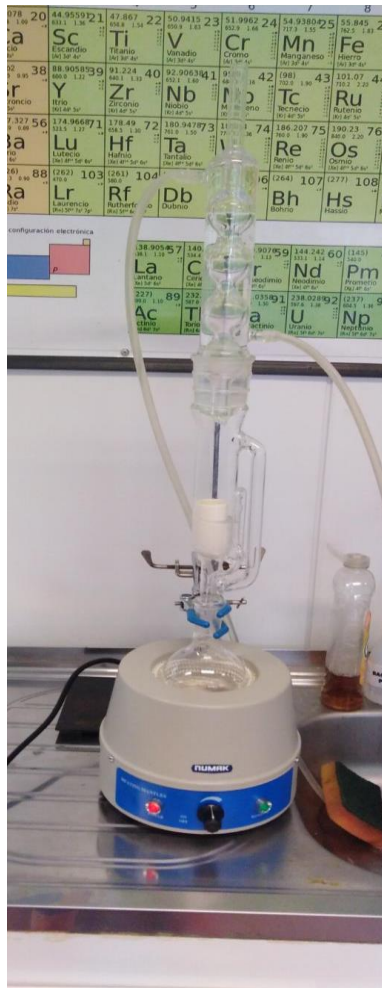
Consejos de prudencia

P201 Solicitar instrucciones especiales antes del uso.

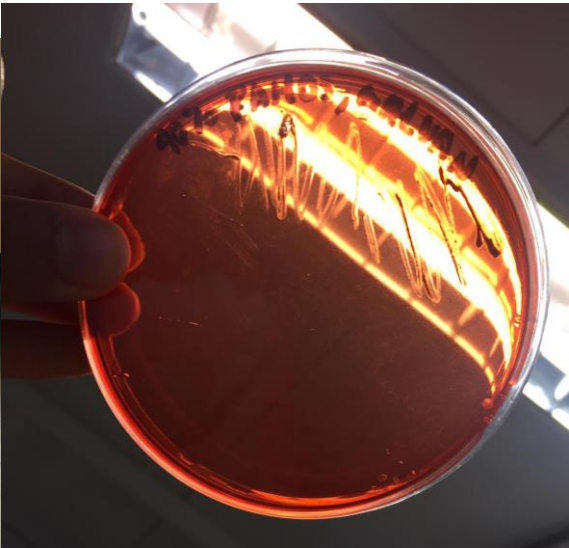
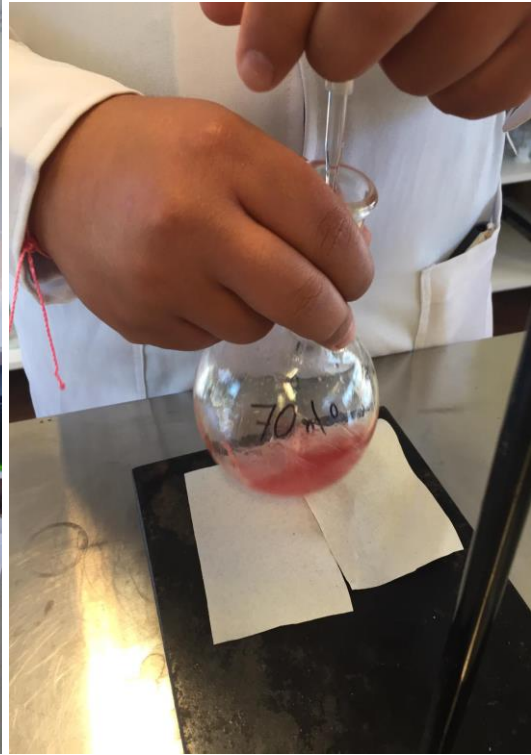
P261 Evitar respirar el polvo.

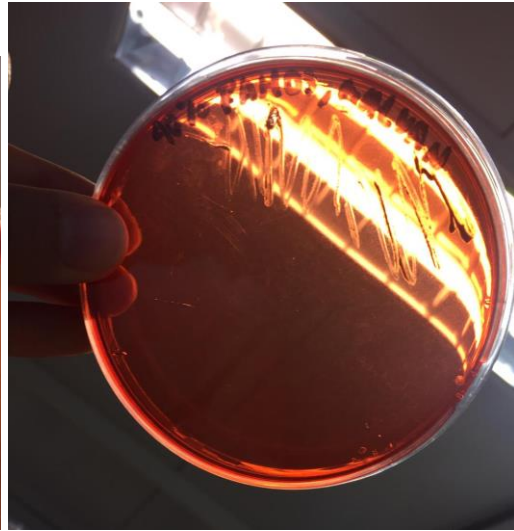
P280 Llevar guantes/prendas de protección.

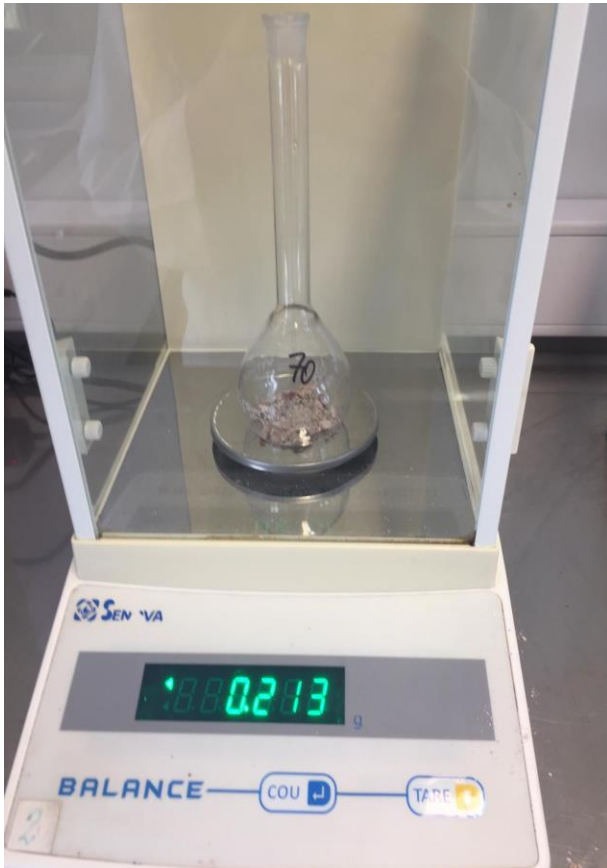
P308+P313 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

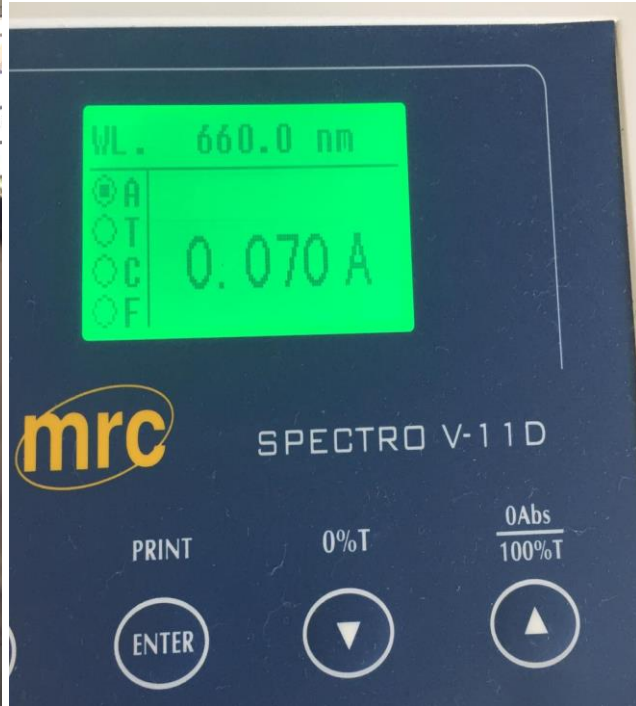
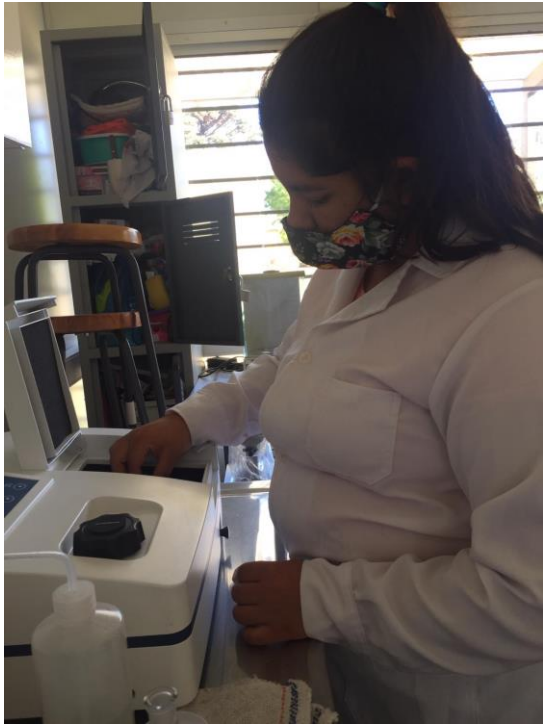












Cálculos:



## Determinación de Cenizas

### Datos Previos:

Chocolate 70 d°

$$m_{\text{crisol}} = 39,3610\text{g}$$

$$m_{\text{chocolate}} = 10,1748\text{g}$$

$$m_{\text{crisol} + \text{cenizas}} = 39,579\text{g}$$

Chocolate 40 d°

$$m_{\text{crisol}} = 39,9492\text{g}$$

$$m_{\text{chocolate}} = 10,0166\text{g}$$

$$m_{\text{crisol} + \text{cenizas}} = 35,108\text{g}$$

### Calculos:

Chocolate 70 d°

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{m_{\text{crisol} + \text{cenizas}} - m_{\text{crisol}}}{m_{\text{chocolate}}} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{39,579 - 39,3610\text{g}}{10,1748} \times 100$$

NOTAS

$$\% \text{ Cenizas} = 2,14\%$$

Chocolate 40 d°

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{m_{\text{crisol} + \text{cenizas}} - m_{\text{crisol}}}{m_{\text{chocolate}}} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{35,108\text{g} - 39,9492\text{g}}{10,0166} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas} = 1,56\%$$

## Determinación Índice de Saponificación.

Datos Previos

Blanco = 13,70 mL

Chocolate 70 d°  
 m grasa = 0,9877g  
 KOH = 25 mL  
 Gaso = 13,30 mL

Chocolate 90 d°  
 m grasa = 0,7714 g  
 KOH = 25 mL  
 Gaso = 13,00 mL

Cálculos:

Chocolate 70 d°

$$IS = \frac{(V_{HCl b} - V_{HCl m}) \cdot N_{HCl} \cdot P_{eq KOH}}{m \text{ grasa}}$$

$$IS = \frac{(13,70 \text{ mL} - 13,30 \text{ mL}) \cdot 0,98959 \text{ N} \cdot 56,1 \text{ g/eq}}{0,9877 \text{ g}}$$

IS = 11,12

Chocolate 90 d°

$$IS = \frac{(V_{HCl b} - V_{HCl m}) \cdot N_{HCl} \cdot P_{eq KOH}}{m \text{ grasa}}$$

$$IS = \frac{(13,70 \text{ mL} - 13,00 \text{ mL}) \cdot 0,98959 \text{ N} \cdot 56,1 \text{ g/eq}}{0,7714 \text{ g}}$$

Notas

IS = 24,92

## Determinación de grasas totales.

Datos Previos:

Chocolate 70 d° cacao

m Balón PI = 106,3424g  
 m Caurucho = 3,4161g  
 m Chocolate = 2,0049g

m P.e. = 1,4123g  
 m Balón PF = 186,1g  
 m Balón PF + grasa = 188,5g  
 m Balón PI + grasa = 106,4g

Chocolate 40 d° cacao

m balón PI = 134,9879g  
 m Caurucho = 3,2566g  
 m Chocolate = 2,0015g  
 m P.e. = 1,4286g

m balón PF = 102,1g  
 m balón PF + grasa = 104,3g  
 m balón PI + grasa = 134,1g

Calculos:

Chocolate 70d°

$m_{\text{balon } \varnothing I} + \text{grasa} - m_{\text{balon } \varnothing I} = 106,4g - 106,3424g = 0,0516g$

$m_{\text{balon } \varnothing F} + \text{grasa} - m_{\text{balon } \varnothing F} = 188,5g - 186,1g = 2,4g$

$\text{grasa} - m_{P.E} = 2,4g - 1,4123g = 0,9877g \rightarrow \text{masa obtenida}$

$\% \text{grasa totales} = \frac{m_{\text{balon} + \text{grasa}} - m_{\text{masa balon}}}{m_{\text{chocolate}}} \times 100$

$\% \text{grasa totales} = \frac{188,5g - 186,1g}{2,0049g} \times 100$

$\% \text{grasas totales} = 49,26\%$

Notas

Chocolate 40d°

$m_{\text{balon } \varnothing I} + \text{grasa} - m_{\text{balon } \varnothing I} = 134,1g - 134,0879g = 0,0121g$

$m_{\text{balon } \varnothing F} + \text{grasa} - m_{\text{balon } \varnothing F} = 104,3g - 102,1g = 2,2g$

$\text{grasa} - m_{P.E} = 2,2g - 1,4286g = 0,7714g \rightarrow \text{masa obtenida}$

$\% \text{grasa totales} = \frac{m_{\text{balon} + \text{grasa}} - m_{\text{balon}}}{\text{masa chocolate}} \times 100$

$\% \text{grasa totales} = \frac{104,3 - 102,1g}{2,0015g} \times 100$

$\% \text{grasa totales} = 38,54\%$

## Determinación de grasas totales

$$\% \text{GT} = \left( \frac{\delta m_{btg}}{m_{btg}} + \frac{\delta m_b}{m_b} + \frac{\delta m_{chocolate}}{m_{chocolate}} \right) \cdot \% \text{GT} \cdot 100$$

$$\% \text{GT} = \left( \frac{0,001g}{188,5g} + \frac{0,001g}{186,1g} + \frac{0,0001g}{2,0099g} \right) \cdot 49,26\% \cdot 100 \quad \left. \vphantom{\% \text{GT}} \right\} 70\%$$

$$\% \text{GT} = 0,298300305\%$$

$$\% \text{GT} = \left( \frac{\delta m_{btg}}{m_{btg}} + \frac{\delta m_b}{m_b} + \frac{\delta m_{chocolate}}{m_{chocolate}} \right) \cdot \% \text{GT} \cdot 100$$

$$\% \text{GT} = \left( \frac{0,001g}{104,3} + \frac{0,001g}{102,1} + \frac{0,0001g}{2,0013g} \right) \cdot 38,54\% \cdot 100 \quad \left. \vphantom{\% \text{GT}} \right\} 40\%$$

$$\% \text{GT} = 0,267253992\%$$

## Determinación del Índice de Saponificación

$$SIS = \left( \frac{S_{VHClb}}{V_{HClb}} + \frac{S_{VHClm}}{V_{HClm}} + \frac{S_{MHCl}}{MHCl} + \frac{S_{grasa}}{grasa} \right) \cdot IS$$

$$SIS = \left( \frac{0,05mL}{13,70mL} + \frac{0,05mL}{13,30mL} + \frac{0,00081N}{0,98959N} + \frac{0,0001g}{0,9877g} \right) \cdot 11,12 \quad \left. \vphantom{SIS} \right\} 70\%$$

$$SIS = 0,10167769 \text{ mg KOH/g}$$

$$SIS = \left( \frac{S_{VHClb}}{V_{HClb}} + \frac{S_{VHClm}}{V_{HClm}} + \frac{S_{MHCl}}{MHCl} + \frac{S_{grasa}}{grasa} \right) \cdot IS$$

$$SIS = \left( \frac{0,05mL}{13,70mL} + \frac{0,05mL}{13,00mL} + \frac{0,00081N}{0,98959N} + \frac{0,0001g}{0,7719} \right) \cdot 29,92 \quad \left. \vphantom{SIS} \right\} 40\%$$

$$SIS = 0,231259332 \text{ mg KOH/g}$$

### Determinación de Cenizas

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{\Delta m_{\text{res}}}{m_{\text{res}}} + \frac{\Delta m_{\text{res, sol}}}{m_{\text{res, sol}}} + \frac{\Delta m_{\text{res, insol}}}{m_{\text{res, insol}}} \right) \cdot \% \text{ Cenizas} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{0,001 \text{ g}}{34,571 \text{ g}} + \frac{0,0001 \text{ g}}{34,3610 \text{ g}} + \frac{0,0001 \text{ g}}{10,1748 \text{ g}} \right) \cdot 2,14 \text{ g} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas} = 0,0008976181 \%$$

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{\Delta m_{\text{res}}}{m_{\text{res}}} + \frac{\Delta m_{\text{res, sol}}}{m_{\text{res, sol}}} + \frac{\Delta m_{\text{res, insol}}}{m_{\text{res, insol}}} \right) \cdot \% \text{ Cenizas}$$

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{0,001 \text{ g}}{35,108 \text{ g}} + \frac{0,0001 \text{ g}}{34,9492 \text{ g}} + \frac{0,0001 \text{ g}}{10,0166 \text{ g}} \right) \cdot 1,56 \text{ g} \times 100$$

$$\% \text{ Cenizas} = 0,004139825985 \%$$

## Determinación de Fósforo:

$$C = \frac{A - 0,0078}{0,0532}$$

$$C = \frac{0,070 - 0,0078}{0,0532}$$

$$C = 1,17 \text{ ppm}$$

chocolate 70.0%

ecuación de la recta

$$A = 0,0532C + 0,0078$$

$$C = \frac{A - 0,0078}{0,0532}$$

$$C = \frac{0,077 - 0,0078}{0,0532}$$

$$C = 1,30 \text{ ppm}$$

chocolate 90.0%

$$C_{\text{madre}} \cdot V_{\text{toma}} = C_2 \cdot V_2$$

$$C_{\text{madre}} = \frac{C_2 \cdot V_2}{V_{\text{toma}}}$$

$$C_{\text{madre}} = \frac{1,17 \text{ ppm} \cdot 250 \text{ mL}}{1 \text{ mL}}$$

70.0%

$$C_{\text{madre}} = 292,5 \text{ ppm}$$

$$C_{\text{madre}} \cdot V_{\text{toma}} = C_2 \cdot V_2$$

$$C_{\text{madre}} = \frac{C_2 \cdot V_2}{V_{\text{toma}}}$$

$$C_{\text{madre}} = \frac{1,3 \text{ ppm} \cdot 250 \text{ mL}}{1 \text{ mL}}$$

90.0%

$$C_{\text{madre}} = 325 \text{ ppm}$$

Notas