

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA E INGENIERÍA DE ALIMENTOS



**DETERMINACIÓN DE CADMIO EN CHOCOLATE DE
MESA COMERCIALIZADO EN LA ZONA
METROPOLITANA DE SAN SALVADOR**

PRESENTADO POR:

ENEDEIDA BELTRÁN IRAHETA

KARLA DEL CARMEN HERNÁNDEZ ACOSTA

ANDREA ALEJANDRA RODRÍGUEZ MENJIVAR

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERA DE ALIMENTOS

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO DE 2017

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

MSc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL:

MSc. CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

DECANO:

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL

SECRETARIO:

ING. JULIO ALBERTO PORTILLO

**ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA E INGENIERÍA DE
ALIMENTOS**

DIRECTORA:

INGA. TANIA TORRES RIVERA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA E INGENIERÍA DE ALIMENTOS

Trabajo de Graduación previo a la opción al Grado de:

INGENIERA DE ALIMENTOS

Título:

**DETERMINACIÓN DE CADMIO EN CHOCOLATE DE MESA
COMERCIALIZADO EN LA ZONA METROPOLITANA DE SAN
SALVADOR**

Presentado por:

**ENEDEIDA BELTRÁN IRAHETA
KARLA DEL CARMEN HERNÁNDEZ ACOSTA
ANDREA ALEJANDRA RODRÍGUEZ MENJIVAR**

Trabajo de Graduación Aprobado por:

Docentes Asesores:

**INGA. SARA ELISABETH ORELLANA CLAROS
LIC. JOSÉ RAMIRO RODRÍGUEZ CARPIO**

San Salvador, Mayo 2017

Trabajo de Graduación Aprobado por:

Docentes Asesores:

INGA. SARA ELISABETH ORELLANA CLAROS

LIC. JOSÉ RAMIRO RODRÍGUEZ CARPIO

DEDICATORIA

A Dios, a los que creyeron en mí y me apoyaron.

Karla Del Carmen Hernández Acosta

“Dando siempre gracias por todo al Dios y Padre, en el nombre de nuestro Señor Jesucristo” Efesios 5:20

Eneideida Beltrán Iraheta

Esta aventura llegó a su fin, se concluyó y floreció con el fruto que queda plasmado en estas páginas.

Logro que ahora me exhorta a seguir cosechando más triunfos y me enseña que no hay nada en el mundo que no se pueda alcanzar, siempre y cuando lo desee con tanta intensidad y crea en mí, y sobre todo que permanezca la perseverancia aun y cuando las circunstancias no ofrezcan los mejores panoramas para conquistar lo que se desea.

Nada de esto lo habría logrado, sin la ayuda de Mi Dios, Mi Papito, como yo tan especialmente lo llamo, quien siempre ilumino mi camino enviándome soplos de sabiduría, que con toda seguridad y afirmación puedo decir que escucho mis suplicas y oraciones y me respaldo siempre.

Bendecida por tener a mi madre, la persona más importante en mi vida, mi mejor ejemplo e inspiración, la que ciegamente creyó, confió, me ánimo y apoyo en todo momento.

Agradecida con mi familia y amigos por su incondicional apoyo y personas que en determinado momento de este camino fueron parte importante en mi vida y me apoyaron. Y sobre todo con mi Alma Mater, que me permitió formarme para servir a mi país.

Andrea Alejandra Rodríguez Menjivar

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS A NUESTROS ASESORES Inga. Sara Elisabeth Orellana Claros y Lic. José Ramiro Rodríguez Carpio, por la orientación, tiempo, dedicación, y paciencia para la realización de este trabajo.

AL DIRECTOR DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES Y APLICACIONES NUCLEARES (CIAN) Ing. Luis Ramón Portillo por permitir el uso de las instalaciones del laboratorio del CIAN.

A LA SEÑORA MARIA GLORIA DEL CARMEN AGUILAR por permitirnos visitar su empresa productora de chocolate de mesa y brindarnos la información necesaria referente a la fabricación de este producto.

A LOS DOCENTES que participaron en nuestra formación académica, brindándonos el conocimiento necesario para culminar este trabajo de graduación.

A todas la personas e instituciones involucradas que de una u otra manera nos dieron su colaboración para llevar a cabo la culminación del presente trabajo de graduación.

Eneideida Beltrán Iraheta
Karla del Carmen Hernández Acosta
Andrea Alejandra Rodríguez Menjivar

RESUMEN

En El Salvador no se cuenta con estudios sobre la contaminación de cadmio en chocolate y productos derivados de cacao, es por ello que el presente estudio pretende dar a conocer las concentraciones de cadmio en chocolate de mesa. El cadmio puede acumularse en el ser humano de 10 a 30 años, esta acumulación tiene efectos graves sobre la salud, afectando diversos órganos y tejidos, por ello la información aquí generada será un primer acercamiento para conocer el contenido de cadmio en chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador y generar información que podría ocuparse para establecer una normativa que regule el nivel máximo de cadmio en chocolate de mesa, y proteger a los consumidores del consumo de este metal pesado.

Para realizar la determinación de cadmio en chocolate de mesa se adaptó el método propuesto por la AOAC 999.11 a las condiciones de laboratorio, realizando un proceso de digestión por el método de vía seca, para determinar posteriormente los niveles de cadmio en chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador, por el método de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito; las muestras digestadas se enviaron a un laboratorio acreditado por el Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) para realizar las lecturas de cadmio en la matriz de chocolate de mesa.

Los niveles de cadmio en las muestras de chocolate de mesa analizadas se encuentran en un rango de 0.003 a 0.018 mg/kg de cadmio, cumpliendo con los parámetros establecidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en conjunto con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el reglamento No 1881/2006 de la comisión de la Unión Europea (UE) y el reglamento técnico MERCOSUR N°12/11 sobre límites máximos de contaminantes inorgánicos en alimentos. Los resultados obtenidos pueden ser utilizados por organismos gubernamentales como insumo para establecer los niveles máximos de cadmio en chocolate y productos derivados de cacao en El Salvador.

Como parte de este estudio se incluyó verificar la inocuidad del chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador, realizando análisis microbiológicos exigidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, *Cacao, Chocolate y Productos Similares, y Derivados del Cacao*. Cada una de las muestras Cumplió con los criterios mínimos de Coliformes totales y reportándose presencia de *Salmonella* en el 44.44% de las muestras analizadas.

INDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
ALCANCES	4
JUSTIFICACIÓN.....	5
ACRÓNIMOS	6
1. MARCO TEORICO	8
1.1. Generalidades del cultivo del cacao	8
1.1.1. Descripción botánica de árboles de cacao cultivados en El Salvador	9
1.1.2. Requerimientos ambientales.....	12
1.1.3. Moniliasis en el cacao	14
1.2. Metales pesados.....	15
1.2.1. Metales pesados en suelos	16
1.2.2 Movilización y contaminación de metales pesados en los suelos	17
1.2.3. Contaminación de suelos por metales pesados en El Salvador	18
1.2.4. Metales Pesados en Alimentos	19
1.2.5. Cadmio y sus efectos en la salud.....	19
1.2.6. Contaminación de cacao con cadmio	21
1.2.7. Antecedentes de contaminación de cadmio en semillas de cacao en América.....	22
1.3. Técnicas analítica para la determinación de cadmio en cacao y derivados.....	24

1.3.1. Principios de la técnica espectrometría de absorción atómica	24
1.3.2. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.	25
1.3.3. Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito	26
1.4. Clasificación y Especificaciones de chocolate de mesa	27
1.4.1 Definición de chocolate de mesa.....	27
1.4.2. Clasificación de chocolate de mesa.....	28
1.4.3. Calidad microbiológica en chocolate	28
1.4.4. Requerimientos microbiológicos.....	29
1.5. Proceso de fabricación de chocolate de mesa.....	31
1.5.1. Proceso de fabricación industrial	31
1.5.2. Proceso de fabricación de chocolate de mesa artesanal	33
1.6. Consumo de cacao a nivel mundial.....	35
1.7. Producción de cacao y derivados de cacao en El Salvador	35
1.7.1. Flujos comerciales de exportación de productos a base de cacao de El Salvador	36
1.8. Desarrollo del cultivo de cacao en El Salvador.....	37
2. DISEÑO METODOLÓGICO	40
2.1. Diseño metodológico del muestreo	40
2.1.1. Marco muestral.....	41
2.1.2. Determinación del tamaño de la muestra	42
2.1.3. Protocolo de muestreo para análisis de cadmio.....	46

2.1.4. Protocolo de muestreo para análisis microbiológico.....	50
2.2. Preparación de muestra compuesta	51
2.3. Implementación del método de análisis	52
2.3.1. Método de la AOAC 999.11.....	52
2.3.2. Adaptación del método de la AOAC 999.11	53
2.4. Análisis de muestras de chocolate de mesa.....	55
2.5. Cálculos y evaluación de los resultados	56
2.6. Determinación del contenido de materia seca total de cacao	56
2.7. Análisis microbiológico de muestras	57
3. ETAPA EXPERIMENTAL	59
3.1 Recolección de las muestras.....	59
3.2. Tratamiento de las muestras previo al proceso de digestión	60
3.3. Digestión de las muestras.	64
3.4. Preparación del blanco	66
3.5. Aplicación de la técnica de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito.	67
4. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	70
4.1. Resultados del contenido de cadmio en muestras de chocolate de mesa	70
4.2. Concentración de cadmio en muestras de chocolate a partir de los resultados.....	70
4.3. Comparación de los resultados con los niveles máximos de cadmio en chocolate.....	72
4.3.1. Representación gráfica de resultados	73

4.4. Análisis microbiológico de muestras de chocolate de mesa	77
CONCLUSIONES.....	84
RECOMENDACIONES	87
BIBLIOGRAFIA.....	89
GLOSARIO DE TERMINOS	93
ANEXOS.....	95
Anexo A. Selección aleatoria de los mercados y supermercados a visitar.....	96
Anexo B. Visita técnica a empresa “G” productora de chocolate de mesa en El Salvador.....	98
Anexo C. Programación para la toma de muestras de chocolate de mesa.	105
Anexo D. Informe de análisis de cadmio	107
Anexo E. Prueba Q de Dixon para valores atípicos	114
Anexo F. Determinación de contenido de materia seca de cacao en chocolate de mesa	117
Anexo G. Informe de análisis microbiológico	120

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1.1 Principales características y variedades más cultivadas de cacao a nivel mundial.....	9
Tabla 1.2 Clasificación botánica de <i>Teobroma cacao</i>	10
Tabla 1.3 Rangos de concentración normales y anómalos de metales pesados en suelos	17
Tabla 1.4 Especificaciones y composición de chocolate de mesa.....	28
Tabla 1.5 Condiciones de crecimiento de la <i>Salmonella</i>	29
Tabla 1.6 Especificaciones microbiológicas para cacao tostado, chocolate y sus derivados	30
Tabla 1.7 Proceso de fabricación artesanal de chocolate de mesa	34
Tabla 1.8 Exportación en dólares de El Salvador de productos a base de cacao	36
Tabla 1.9 Exportación en dólares, de chocolate y demás preparaciones alimenticias que contengan cacao	37
Tabla 2.1 Número de habitantes del área metropolitana de San Salvador.....	40
Tabla 2.2 Total de supermercados y mercados del municipio de San Salvador	41
Tabla 2.3 Chocolate de mesa comercializado en el área metropolitana de San Salvador	42
Tabla 2.4 Supermercado y mercados que comercializan chocolate de mesa en el municipio de San Salvador.....	43
Tabla 2.5 Sucursales a visitar para la toma de muestras de chocolate de mesa	45

Tabla 2.6 Hoja de registro para la toma de muestras de chocolate de mesa en supermercados.....	47
Tabla 2.7 Hoja de registro para la toma de muestras de chocolate de mesa en mercado	48
Tabla 2.8 Línea de supermercados a visitar para la toma de muestras de análisis microbiológico	50
Tabla 2.9 Cuadro comparativo del método propuesto por la AOAC 999.11 y el método adaptado experimentalmente para el tratamiento de las muestras de chocolate de mesa.	54
Tabla 4.1 Resultados de análisis de determinación de cadmio en chocolate de mesa.....	70
Tabla 4.2 Cadmio en chocolate de mesa en unidades de mg/kg	71
Tabla 4.3 Límites máximos de cadmio para chocolate de mesa	72
Tabla 4.4 Comparación de resultados de cadmio en chocolate de mesa con normativas.....	75
Tabla 4.5 Resultados microbiológicos realizados a muestras de chocolates de mesa.....	77
Tabla 4.6 Especificaciones microbiológicas para cacao tostado, chocolate sus derivados y productos similares y derivados del cacao	78
Tabla 4.7 Comparación de resultados de análisis microbiológicos de Coliformes totales en muestras de chocolate de mesa	78
Tabla 4.8 Comparación de resultados de análisis microbiológicos de <i>Salmonella</i> en muestras de chocolate.....	79
Tabla B-1 Procesos de fabricación de chocolate de mesa empresa "G".....	98
Tabla E-1 Resultados obtenidos de la concentración de cadmio en chocolate de mesa.....	114

Tabla F-1 Cantidad de ingredientes para elaboración de chocolate de mesa.....	117
Tabla F-2 Porcentaje de ingredientes de chocolate de mesa en base húmeda.....	118
Tabla F-3 Porcentaje de ingrediente de chocolate de mesa en base seca.....	119

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.1 Theobroma Augustifolium	10
Figura 1.2 Theobroma Bicolor	11
Figura 1.3 Theobroma cacao	11
Figura 1.4 Gibas en fruto de cacao	14
Figura 1.5 Síntomas y signos de la moniliasis	15
Figura 1.6 Esquema de la técnica de espectrometría de adsorción atómica.....	27
Figura 1.7 Proceso de fabricación de chocolate de mesa industrial	31
Figura 2.1 Selección de muestras de chocolate de mesa en el estante.....	46
Figura 2.2 Selección de las muestras compuestas	47
Figura 2.3 Preparación de una muestra compuesta	52
Figura 3.1 Diagrama de flujo de etapa experimental.....	59
Figura 3.2 Tratamiento de las muestras previo al proceso de digestión.....	60
Figura 3.3 Método del cuarteo en muestras de chocolate de mesa	62
Figura 3.4 Secado de muestras en estufa a 70° C por 24 horas.	62
Figura 3.5 Pesado de muestras de chocolate de mesa	63
Figura 3.6 Ceniza obtenida del proceso de calcinación de las muestras de chocolate de mesa	64
Figura 3.7 Procedimiento de digestión de las muestras.....	65
Figura 3.8 Proceso de preparación del blanco.....	66
Figura 3.9 Equipo de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito	67
Figura 4.1 Concentración de cadmio en chocolate de mesa por marca.....	73

Figura 4.2 Comparación de análisis de resultados de muestras de chocolate con especificaciones de Unión Europea, FAO/OMS y Mercosur.....	75
Figura 4.3 Resultados de análisis microbiológicos de presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> en muestras de chocolate de mesa con registro sanitario	80
Figura 4.4 Resultado de análisis microbiológico de presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> en muestras de chocolate de mesa sin registro sanitario.....	81
Figura A-1 Determinación aleatoria de supermercados y mercados a muestrear.....	96
Figura A-2 Determinación aleatoria de supermercados y mercados para análisis microbiológico.....	97
Figura B -1 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de chocolate de mesa en empres "G"	100
Figura B-2 Acta de Inspección Sanitaria a empresa “G”	104
Figura E-1 Representación gráfica de los datos de concentración de cadmio de las muestras de chocolate de mesa.....	114
Figura F-1 Balance de masa en mezclador.....	117

INTRODUCCIÓN

El cadmio es abundante en la naturaleza y puede ser liberado al ambiente en diferente número de formas, incluyendo las actividades naturales, tales como la actividad volcánica (ERENOMS, 2010). El cadmio puede estar presente en los alimentos en concentraciones elevadas que pueden generar daños en la salud, y afectando diversos órganos y tejidos como; riñón, corazón, pulmón, sistema nervioso central y periférico. (Nava Ruiz y Méndez Armenta, 2011)

En El Salvador fue históricamente un lugar donde se cultivó algodón principalmente en la década de los 50 y 60, se presume que los suelos quedaron altamente contaminados con elementos tóxicos entre ellos el cadmio, provenientes de los pesticidas (Henríquez., R, 2013). Estudios realizados en Estados Unidos muestran que el factor que más contribuye a la concentración de cadmio en cultivos es el pH del suelo. En suelos ácidos la absorción es mayor, los suelos donde se cultiva cacao son de tendencia ácida, típico de la región húmeda tropical (FHIA, 2011), por esta razón es necesario investigar acerca de la posible contaminación de cadmio en chocolate de mesa, y debido a la falta de una clara categorización de los chocolates y a los pocos o escasos datos sobre la presencia de cadmio en estos productos; se debe de reunir más información, con el fin de avanzar en el debate sobre el establecimiento de niveles máximos para los chocolates y productos derivados (FAO/OMS, 2016).

La investigación se inició con una recopilación de información donde se describen las generalidades del cultivo del cacao, la presencia de metales pesados en suelos, alimentos y la contaminación de cacao con cadmio, se describe la técnica analítica para determinar cadmio y otros metales en alimentos, así como los procesos de elaboración de chocolate de mesa a nivel industrial y artesanal.

En el diseño metodológico se describe el procedimiento a seguir para la toma de muestras de chocolate de mesa que se comercializa en el área metropolitana de San Salvador, así como el procedimiento para el tratamiento de las muestras previo al análisis de cadmio. La etapa experimental de la investigación se dividió en cinco partes; en la primera se explica el procedimiento utilizado para la recolección de las muestras, en la segunda se describe el

procedimiento del tratamiento de las muestras previo al proceso de digestión, en la tercera se describe el proceso de digestión de las muestras, en la cuarta la preparación del blanco y la quinta los valores obtenidos de las lecturas de las muestras.

Con los resultados obtenidos del análisis de determinación de cadmio en las muestras de chocolate de mesa, se realizaron posteriormente los cálculos para la obtención de la concentración de mg de cadmio/kg de muestra; se elaboró un balance de masa para determinar el porcentaje de materia seca de cacao, con la finalidad de clasificar el chocolate de mesa y comparar el contenido de cadmio con las correspondientes normativas, se presenta la comparación gráfica de los resultados del contenido de cadmio en la muestra y los límites propuestos por las normativas.

Se efectuó análisis microbiológico y poder conocer cómo se encuentra la inocuidad del chocolate de mesa y los resultados de los análisis de cada una de las muestras se comparan con la norma mexicana para productos de chocolate y derivados de cacao.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de cadmio en chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Realizar una investigación bibliográfica acerca de la posible contaminación de cadmio en el cultivo de cacao, producción y procesos de elaboración de chocolate de mesa.
2. Diseñar y seleccionar el tamaño de una muestra representativa del chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador.
3. Determinar el contenido de cadmio en muestras de chocolate de mesa de marcas nacionales, comercializadas en el área metropolitana de San Salvador.
4. Comparar el contenido de cadmio con los límites establecidos por la FAO/OMS y la Unión Europea, con los resultados encontrados en los análisis de las muestras de chocolate de mesa en estudio.
5. Contribuir con los resultados de esta investigación como un insumo a la propuesta de anteproyecto de niveles máximos para el cadmio en el chocolate y productos derivados de cacao.

ALCANCES

1. Se realizó una investigación bibliográfica acerca de la elaboración de chocolate de mesa, el riesgo a la salud por contaminación de cadmio y fundamentos de la técnica analítica que se utilizó.
2. La investigación permitió tener resultados de la cantidad de cadmio en chocolate de mesa, la información será un insumo para la toma de decisiones en la posición país, referente al anteproyecto de niveles máximos para el cadmio en el chocolate y productos derivados del chocolate (FAO/OMS, 2016).
3. Se realizó un diseño muestral para determinar el tamaño de la muestra representativa de chocolate de mesa, comercializado en la zona metropolitana de San Salvador. Se determinaron las especificaciones microbiológicas referentes a Coliformes totales y *Salmonella spp*, comparando los resultados con la norma oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013.

JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a investigaciones realizadas en algunos países como Honduras (FHIA, 2011) y Ecuador (Mite, Carrillo y Durango, 2010) donde analizaron suelos donde se cultiva cacao y semillas de cacao, se encontró contaminación por cadmio en las semillas de cacao, materia prima para la elaboración de chocolate.

La contaminación por cadmio en productos derivados del cacao se ha asociado a efectos negativos a la salud, como lo son insuficiencia renal tubular, arterosclerosis aortica y coronaria, incremento de ácidos grasos, enfisema pulmonar y bronquitis con daño progresivo alveolar, es por ello que se hace necesario conocer el contenido de cadmio en chocolate de mesa un producto tradicional comercializado en la zona metropolitana de San Salvador y contribuir a la propuesta de anteproyecto de niveles máximos para el cadmio en chocolates y productos derivados del cacao; ya que este anteproyecto busca establecer los niveles máximos de cadmio a nivel mundial y no afectar las exportaciones a diferentes países y tener un comercio equitativo que no afecte la salud de las personas que consumen estos productos a base de cacao.

En El Salvador no se cuenta con estudios donde se dé a conocer el contenido de cadmio en chocolate de mesa, por ello existe la necesidad de realizar una investigación para conocer los niveles de cadmio que podría presentar este producto, se va a contribuir con el aporte de datos donde se muestre la cantidad de cadmio en este alimento y que con esta base el organismo competente tenga insumos y se logre unificar criterios para avanzar en el debate sobre establecimiento de niveles máximos de cadmio para chocolates y productos derivados del cacao.

ACRÓNIMOS

FRXED	Fluorescencia de Rayos X por Energía Dispersiva
NMX	Norma Mexicana
PROINCA	Productos Instantáneos Centroamericanos
GPX	Glutación Peroxidasa
CAT	Catalasa
SOD	Superoxido Dismutasa
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
OMS	Organización Mundial de la Salud
CAC	Comisión Alimentario del Codex
NMA	Nivel Máximo Admisible
FAAS	Espectrofotometría de Absorción Atómica de llama
ETASS	Espectrometría de Absorción Atómica
HG-AFS	Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Generación de Hidruros
ICP-OES	Espectrometría de Emisión Óptica con plasma acoplado inductivo
GFAAS	Espectrómetro de Absorción Atómica con Horno de Grafito
ESCACAO	Sociedad cooperativa de Productores de Cacao de El Salvador
AABEX-CACAO	Asociación Agropecuaria de Beneficiadores y Exportadores de Cacao
COAMSS	Concejo de Alcaldes de la Área Metropolitana de San Salvador
OPAMSS	Oficina Planificadora del Área Metropolitana de San Salvador
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
LECC	Laboratorio Especializado en Control de Calidad
CENSALUD	Centro de Investigación y Desarrollo en Salud

CAPÍTULO I: MARCO TEORICO

1. MARCO TEORICO

En este capítulo se describen las generalidades del cultivo del cacao, así como los requerimientos climáticos y nutrientes que necesita la planta de cacao para poder crecer y desarrollarse, se aborda el tema de contaminación de metales pesados en alimentos y la contaminación de cacao con cadmio; se presentan algunos antecedentes de investigaciones realizadas en otros países acerca de contaminación con cadmio en cultivos de cacao, se describe la metodología para determinar cadmio y otros metales en alimentos y además se detalla el proceso de elaboración de chocolate de mesa artesanal e industrial.

1.1. Generalidades del cultivo del cacao (FUNDESYRAM, 2016)

El nombre científico del cacao es *Theobroma cacao L.*, que recibe el árbol del cacao, o cacaotero, *Theobroma* significa en griego “alimento de los dioses”; cacao deriva del náhuatl “cacáhua”. Actualmente, este tipo de cacao se extiende desde México a Brasil en zonas tropicales. También se siembra en el oeste de África. El cacao es originario del continente americano, pero se ha propagado en el mundo porque es utilizado, mayormente, como materia prima para la industria de los chocolates, la cual tiene gran demanda internacional. También es utilizado a menor escala para la industria farmacéutica y de cosméticos.

Al procesar el grano del cacao se obtiene cuatro principales productos: licor o pasta de cacao, manteca de cacao, torta de cacao y cacao en polvo; estos son utilizados como materia prima en la industria de alimentos y farmacéutica, los cuales al ser procesados se obtienen diferentes productos como chocolate de mesa (chocolate no refinado donde el tamaño del grano de azúcar es mayor de 70 μm), cobertura de chocolate, chocolate granulado, confites de chocolate, bebidas, etc.

Las variedades de cacao más cultivadas a nivel mundial son:

- a) Criollo: Es el más antiguo y proviene de la selva norte de Perú.
- b) Forastero: Es el más abundante y representa el 90 % de la producción mundial.

- c) Trinitario: Original de la isla de Trinidad, es un híbrido biológico natural, cruce del criollo y el forastero

En la Tabla 1.1 se presentan las principales características y las variedades más cultivadas de cacao a nivel mundial.

Tabla 1.1 Principales características y variedades más cultivadas de cacao a nivel mundial

Aspecto	Tipo de variedad	Descripción.
	Criollo	Denominado criollo o fino, se distingue por frutos de forma alargada, puntiaguda, con cascara suave y arrugada, con 10 surcos combinados entre profundos y secos; con semillas de sabor dulce y color blanco a violeta.
	Forastero	Conocido como forastero o amargo con frutos de forma redonda con cascara fuerte y lisa; con semillas aplanadas de color morado y sabor amargo
	Trinitario o híbridos	Se origina del cruce de criollo y forastero, de frutos con formas y colores diversos con semillas grandes

Fuente: (Lutheran World Relief, 2013)

1.1.1. Descripción botánica de árboles de cacao cultivados en El Salvador (Marroquin Rodriguez, 2011)

Los arboles de cacao cultivados para cosecha suelen tener una altura de 2 o 3 metros, poseen troncos erectos y lisos de color marrón pálido, y hojas ovales con ápice bien marcadas de hasta 25 cm de longitud, de un color rojizo cuando son jóvenes y verdes cuando son adultas, las flores son pequeñas de color amarillo cremoso y sépalos rosados, crecen sobre los troncos y las ramas más gruesas; a partir de estas se producen los frutos, unas bayas alargadas de hasta 30cm de largo.

La clasificación botánica del árbol del cacao se describe en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2 Clasificación botánica de *Theobroma cacao*

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dilleniidae
Orden	Malvales
Familia	Sterculiaceae
Subfamilia	Byttnerioideae
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>cacao</i> L.

Fuente: (Marroquin Rodriguez, 2011)

Del género *Theobroma*, se conocen de 15 a 18 especies de las cuales tres se hallan representadas en la flora Salvadoreña.

- a) ***Theobroma Angustifolium***: Árbol cultivado en el departamento de Sonsonate y algunos otros lugares, bajo los nombres vernáculos de CACAO DE LA INDIA; CUSHTA; el fruto tiene pulpa comestible y sus semillas suministran chocolate de regular calidad, pero no comercializada. En la Figura 1.1 se presenta el fruto de cacao del género *Theobroma Angustifolium*.



Figura 1.1 *Theobroma Angustifolium*

Fuente: (Marroquin Rodriguez, 2011)

- b) ***Theobroma Bicolor***: Árbol cultivado en algunos lugares de Sonsonate, bajo el nombre vernáculo de PATASHTE; es de fruto grande, de cascara leñosa, cuyas semillas son molidas para la preparación de chocolate de uso casero. En la Figura 1.2 se presenta el fruto de cacao del genero *Theobroma Bicolor*.



Figura 1.2 *Theobroma Bicolor*
Fuente: (Marroquin Rodriguez, 2011)

- c) ***Theobroma cacao***: Es una planta originaria de las zonas calientes de América. El fruto de *Theobroma cacao* es una baya carnosa de superficie roja y amelonada, que contiene una pulpa blanda, dentro de la cual se encuentran las semillas ovoideas, de embrión grueso, raicilla corta y cotiledones gruesos, carnosos y replegados que constituyen los granos de cacao.

En la Figura 1.3 se presenta el árbol de cacao del genero *Theobroma cacao*.



Figura 1.3 *Theobroma cacao*
Fuente: (Marroquin Rodriguez, 2011)

1.1.2. Requerimientos ambientales

Para obtener cacao de buena calidad, abundante y sano; es importante tener en cuenta los requerimientos ambientales que necesita la planta de cacao para crecer y dar frutos; el cacao es originalmente de las tierras bajas de los bosques densos de Centro América y la parte Norte de América del Sur, en esta región el clima es cálido y húmedo durante todo el año; por lo tanto es de esperar que al seleccionar un sitio para el establecimiento de un cacaotal, se dé especial consideración a la temperatura y a la cantidad de lluvia de la región (Hardy, 1961).

Los requerimientos ambientales para un crecimiento óptimo de una plantación de cacao son los siguientes:

a) Precipitación (Chávez, 2004)

El cacao se puede sembrar en zonas en donde las precipitaciones anuales varíen entre 1,500 y 3,800 mm, siendo el rango entre 1,800 y 2,600 mm en donde mejor se desarrolla, el rango moderadamente apto para la siembra está entre los 1,500 a los 1,800 mm, y los 2,600 a los 3,200 mm en donde se pueden desarrollar los cultivos con algún tipo de limitaciones que pueden derivar en la necesidad de prácticas de manejo adicionales a las comúnmente utilizadas. En zonas de menor precipitación puede cultivarse el cacao con la implementación artificial de riego. Para el caso de las zonas con altas precipitaciones, existe un alto riesgo de que se presenten problemas fitosanitarios lo cual genera mucho costo en su manejo.

b) Temperatura (Chávez, 2004)

El régimen de temperatura para el cacao se encuentra entre los 18 y 32 °C, en donde las temperaturas más aptas, están entre los 24 a 28 °C y moderadamente aptas se encuentra el rango entre los 20 a 24 °C, y los 28 a 30 °C, las temperaturas menores a 18° C y mayores a 32° C, dificultan el desarrollo adecuado del cacao. El factor temperatura es clave para el cultivo del cacao ya que por ejemplo las variaciones mayores a 9°C entre el día y la noche afectan la polinización y la formación de los frutos, de la misma manera las flores del cacao no se forman bajo temperaturas inferiores a los 25°C

c) Humedad (Chávez, 2004)

El cacao necesita de una alta humedad relativa para su pleno desarrollo, sin embargo no existe evidencia de esto y que la humedad relativa del aire puede bajar hasta un 40 a 50% sin afectar negativamente a la planta siempre y cuando haya suficiente agua en el suelo. Esta es una de las razones por las cuales el cacao puede ser cultivado en zonas secas donde haya la posibilidad de aplicarle riego suplementario, como es el caso de los Valles Interandinos Secos de Perú, Ecuador y Bolivia.

d) Vientos (Chávez, 2004)

La literatura refiere que los vientos que presentan una velocidad mayor a los 4 m/s son perjudiciales, ya que aumentan la desecación de las hojas, e impiden la polinización. Sin embargo este efecto es mínimo ya que una vez que el cultivo cierra, el efecto de barrera de los mismos árboles de cacao y de los sombríos hace que la influencia del viento prácticamente solo se presente solo en los bordes de los lotes.

e) Latitud (Chávez, 2004)

El cacao solo se puede sembrar en la franja tropical de la tierra, partiendo del ecuador hasta los 15 o 20° de la Latitud, tanto hacia el norte como hacia el sur.

f) Altitud (Chávez, 2004)

Según reportan ciertos autores, el rango altitudinal óptimo para el cultivo del cacao está entre los 400 y 1,200 metros sobre el nivel del mar.

g) Suelos (Chávez, 2004)

Los suelos apropiados para el cultivo del cacao son aluviales, francos y profundos con subsuelo permeable. El drenaje se determina por las condiciones climáticas del lugar, la topografía, y la capacidad intrínseca del suelo para mantener una adecuada retención de humedad y aireación. El pH del suelo es un importante parámetro que determina la velocidad de descomposición de la materia orgánica y la disponibilidad de los elementos nutritivos. El cacao se desarrolla eficientemente cuando el pH del suelo se encuentra en el rango de 6.0 a 6.5

h) Efectos de la iluminación (Hardy, 1961)

La intensidad de luz más adecuada para plántulas de cacao se ha demostrado alrededor del 25% de la luz solar completa. La cantidad de luz puede aumentarse gradualmente hasta el 50% y más adelante si todos los otros factores ambientales son favorables hasta alcanzar luminosidad completa.

1.1.3. Moniliasis en el cacao (FHIA, 2011)

El patógeno causante de la moniliasis es el hongo *Moniliophthora roreri*, tiene un largo período de incubación (tiempo transcurrido desde que se infecta el fruto hasta que aparece algún síntoma externo en el mismo). Este período varía de 3 a 8 semanas, según la edad del fruto, la severidad del ataque (cantidad de esporas que llegan a los frutos), la susceptibilidad del árbol y las condiciones de clima, principalmente presencia de lluvias.

En los frutos menores de dos meses la infección aparece primero como pequeños abultamientos o gibas en la superficie de la mazorca, los cuales se decoloran y presentan un aspecto más brillante que el resto de la superficie del fruto. Después de la giba, aparece una mancha café que se va extendiendo con mayor o menor rapidez según la susceptibilidad del material y sobre esta mancha empieza a aparecer una felpa blanca o micelio del hongo (filamentos vegetativos); luego de tres a siete días y allí mismo sobre el micelio blanquecino empiezan a emerger las esporas del tipo conidio de color crema, que son liberadas y dispersadas en el aire por la acción del viento, principalmente, en la Figura 1.4 se presenta gibas en frutos de cacao.



Figura 1.4 Gibas en fruto de cacao
Fuente: (FHIA, 2011)

Otro síntoma común de la moniliasis es la apariencia de madurez prematura, lo que significa que las mazorcas cambian de color, dando la impresión de madurez normal en frutos que todavía no tienen el tamaño ni la edad de cosecha.

El daño interno causado por la moniliasis es más grave que el daño externo, pues se pierden casi todas las almendras, sin importar la edad del fruto. En la Figura 1.5 se muestran síntomas y signos de la moniliasis, a la izquierda: Mancha café y madurez prematura como síntomas típicos de la moniliasis en fruto a mitad de su desarrollo. Derecha: fruto con micelio y esporas como signos de la enfermedad, que contribuyen a la propagación de la moniliasis a otros frutos sanos.



Figura 1.5 Síntomas y signos de la moniliasis
Fuente: (FHIA, 2011)

1.2. Metales pesados

Los metales pesados son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano; entre los más importantes tenemos: arsénico (As), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), mercurio (Hg), níquel (Ni), plomo (Pb), estaño (Sn) y cinc (Zn).

La peligrosidad de los metales pesados es mayor al no ser química ni biológicamente degradables. Una vez transmitidos al medio ambiente, principalmente debido a la actividad industrial y minera, pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años, contaminando el suelo y acumulándose en las plantas y los tejidos orgánicos. Además, su concentración en los seres vivos aumenta a lo largo de la cadena alimentaria.

1.2.1. Metales pesados en suelos (Henríquez R., 2013)

Los metales pesados se encuentran presentes en el suelo como componentes naturales o como consecuencia de las actividades antropogénicas. Estos se pueden incorporar al ciclo del agua o acumularse en tejidos vegetales o sufrir diversas transformaciones químicas por medio de los procesos: de absorción, solubilización, precipitación y cambios del estado de oxidación. Las actividades geológicas naturales, como desgastes de cerros y volcanes, constituyen una fuente de aportaciones importante de metales pesados al suelo.

En el suelo, los metales pesados, pueden estar presentes como iones libres o disponibles, compuestos de sales metálicas solubles o bien, compuestos insolubles o parcialmente solubilizables como óxidos, carbonatos e hidróxidos. La movilidad relativa de los metales pesados en los suelos es de suma importancia, en cuanto a su disponibilidad y su potencial para lixiviarse de las capas del suelo hacia las aguas subterráneas, y difiere si el origen de los metales pesados es natural o antropogénicas.

Desde el punto de vista biológico, se distinguen dos grandes grupos de metales pesados en los suelos, aquellos metales pesados que no presentan una función biológica conocida como Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, Sb, Bi; y los que son considerados como oligoelementos o micronutrientes, entre los cuales tenemos: Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se y Zn.

Los oligoelementos o micronutrientes se requieren en pequeñas cantidades, o cantidades traza, por las plantas y animales; todos ellos son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. En general cuando los metales pesados considerados como oligoelementos llegan a superar cierto umbral de concentración en los suelos, estos se vuelven tóxicos.

En la Tabla 1.3 se presentan los rangos de concentración normales y anómalos de metales pesados en suelos

Tabla 1.3 Rangos de concentración normales y anómalos de metales pesados en suelos

Elemento	Rango normal [mg/kg]	Rango anómalos [mg/kg]
As	<50 – 40	>2500
Cd	<1 – 2	>30
Cu	<2 – 60	>2000
Mo	<1 – 5	>10 – 100
Ni	<1 – 5	>10 – 100
Pb	<10 – 150	>1000
Se	<1 – 2	>500
Zn	<25 – 200	>1000

Fuente: (Henríquez., R, 2013)

1.2.2 Movilización y contaminación de metales pesados en los suelos (Henríquez, 2013)

Los factores que influyen en la movilización de los metales pesados en el suelo están íntimamente relacionados con las características del suelo: pH, potencial redox, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de intercambio (catiónico y/o aniónico), presencia de carbonatos, materia orgánica, textura, entre otras.

La naturaleza de la contaminación, el origen de los metales y sus diferentes formas de deposición y condiciones medio ambientales producen acidificación, cambios en las condiciones redox, variación de temperatura y humedad en los suelos. A continuación se explican algunas de sus influencias.

a) El pH

La mayoría de los metales tienden a estar más disponibles en un pH ácido, exceptuando los metales: As, Mo, Se y Cr; Directa o indirectamente, el pH afecta varios mecanismos de la retención del metal en los suelos. El pH es un parámetro muy importante que influye enormemente en los procesos de absorción, precipitación y disolución, la formación de complejos y reacciones de óxido-reducción

b) La textura

La textura de los suelos afecta la movilización de los metales pesados, por ejemplo, la arcilla tiende a absorber los metales pesados, que quedan retenidos en sus posiciones de cambio.

c) La materia orgánica.

La formación de complejos por la materia orgánica del suelo es uno de los procesos que intervienen en la capacidad de solubilidad y asimilabilidad de metales pesados por las plantas; la toxicidad de los metales pesados aumenta en gran medida por su fuerte tendencia a formar complejos organometálicos, facilitando con ello, su solubilidad, disponibilidad y dispersión.

d) Capacidad de cambio.

Está en función del contenido de arcilla y materia orgánica, fundamentalmente; en general cuando sea la capacidad de intercambio catiónico, mayor será la capacidad del suelo de fijar metales. El poder de absorción de los distintos metales pesados depende de su valencia y del radio iónico hidratado; a mayor tamaño y menor valencia, se retienen con menor fuerza.

1.2.3. Contaminación de suelos por metales pesados en El Salvador (Henríquez, 2013)

En una investigación realizada en 2013 por Henríquez R., se analizaron muestras de suelos recolectadas en comunidades y zonas de cultivo en el bajo Lempa, en el municipio de Jiquilisco, Usulután, el análisis de las muestras fue hecho a través de la técnica de Fluorescencia de Rayos X por Energía Dispersiva (FRXED), para la determinación de metales pesados (Pd, Cd, Cr, As y Cu).

Debido a que la zona del bajo Lempa fue históricamente un lugar donde se cultivó algodón principalmente en la década de los 50 y 60, se presume que los suelos quedaron altamente contaminados con elementos tóxicos provenientes de los pesticidas. El problema con muchos de estos pesticidas es que algunos de ellos pueden contener metales pesados, también nefrotóxicos, en forma de aditivos o simplemente como contaminantes de los productos agroquímicos que se comercializan (o comercializaban) en El Salvador.

En la zona de cultivos los valores máximos de Cd y Pb fueron 0.63 y 3.97 mg/kg respectivamente y se ubicaron en la zona donde se cultiva maíz. Estas concentraciones máximas encontradas podrían estar estrechamente relacionadas con el uso de agroquímicos que son utilizados en la zona antes mencionada.

1.2.4. Metales Pesados en Alimentos

Los metales pesados que están en los alimentos provienen de diversas fuentes, las más importantes son: la composición mineralógica del suelo en el que se producen los alimentos para el hombre y los animales; los lodos residuales, los fertilizantes químicos y plaguicidas empleados en agricultura. La presencia de metales pesados en alimentos, constituye un tema de actualidad por los daños que ocasionan a la salud pública. Es necesario enfatizar que los riesgos a la salud de la población infantil necesitan ser evaluados de una manera integral, considerando la exposición crónica de metales pesados en alimentos, que por lo regular se presenta de forma asintomática durante un tiempo prolongado de vida (AECOSAN, 2016).

La habilidad de la vida silvestre para acumular y concentrar metales pesados tales; como, el cadmio, incrementan el riesgo de toxicidad sobre la cadena alimenticia, siendo la dieta una de las principales vías de exposición a metales. Si bien las presentaciones clínicas de toxicidad de metales pueden ser variadas, muchos inducen daño a través de mecanismos similares por unión a enzimas, sustitución de otros elementos (reacciones bioquímicas). Las enfermedades producidas por metales, reflejan con frecuencia diferencias en absorción, distribución o metabolismo. (Nava Ruiz y Méndez Armenta, 2011)

1.2.5. Cadmio y sus efectos en la salud (Nava Ruiz y Méndez Armenta, 2011)

El cadmio es un metal que forma parte del grupo IIB de la tabla periódica, con un peso atómico de 112.41 u; la forma iónica del cadmio (Cd^{2+}) esta usualmente combinada con formas iónicas del oxígeno (óxido de cadmio CdO_2), cloruro (cloruro de cadmio, CdCl_2) o sulfuros (sulfato de cadmio CdSO_4); se ha estimado que 300,000 toneladas de cadmio son liberadas al medio ambiente cada año de las cuales 4,000 a 13,000 toneladas son derivadas de las actividades humanas.

En general, la población está expuesta al cadmio principalmente por dos vías: la oral a través del agua e ingesta de comida contaminada con cadmio (hojas de vegetales, granos, cereales, frutas, vísceras animales y pescado); la segunda vía es a través de la inhalación de partículas de cadmio durante las actividades industriales en personas laboralmente

expuestas, mientras que en la población general, la inhalación es principalmente debida al humo de cigarro que contiene cadmio; la exposición e inhalación del humo de cigarro en fumadores activos y pasivos es considerado altamente peligroso ya que el cadmio se absorbe fácilmente por los pulmones.

En humanos y otros mamíferos la absorción del cadmio se lleva a cabo a través de un proceso similar al de la absorción de metales esenciales como el hierro y zinc; esta absorción es potenciada cuando existen deficiencias de calcio y hierro en la dieta o dietas bajas en proteínas, el cadmio es transportado por la sangre y distribuido inicialmente al hígado y al riñón.

El cadmio afecta diversos órganos y tejidos como: riñón (produciendo insuficiencia renal tubular, proteinuria e insuficiencia renal crónica), corazón (produciendo arterosclerosis aórtica y coronaria, incremento en colesterol y ácidos grasos), huesos, testículos, placenta, y sistema nervioso central y periférico. El pulmón es un órgano muy susceptible a la exposición a cadmio, la inhalación crónica subaguda, puede producir bronquitis con daño progresivo alveolar, fibrosis secundaria y enfisema.

El cadmio reemplaza al hierro o cobre en diferentes proteínas, por lo que estos iones al quedar libres ingresan al ciclo de Haber Weiss, catalizando la reacción de Fenton causando un incremento en el estrés oxidativo. Estos efectos tratan de ser detenidos por mecanismos de defensa antioxidante en el cerebro y otros órganos; sin embargo, diversos reportes han mostrado que la actividad de los sistemas antioxidantes glutatión peroxidasa (GPx), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) son disminuidas en presencia de cadmio.

El cadmio afecta al sistema nervioso central en niños debido principalmente a que el desarrollo de la barrera hematoencefálica todavía no alcanza su madurez, es posible que el cadmio pase a través de ella con más facilidad, produciendo cambios neuropatológicos tales como: edema cerebral, picnosis, hemorragias, y necrosis en corteza parietal, cerebelo, putamen y núcleo caudado, datos similares fueron reportados en la autopsia de un niño de 2 años de edad que presento una elevada concentración de cadmio en el cerebro. El cadmio puede alterar el metabolismo humano compitiendo con el hierro, cobre, cinc, manganeso y selenio por ligantes en los sistemas biológicos.

Estudios poblacionales sobre toxicidad y la acumulación de cadmio sugieren que un considerable número de individuos presenta niveles tóxicos de cadmio en sus riñones, a pesar de las restricciones sobre niveles mínimos de cadmio permitidos en la ingesta de alimentos. Algunos autores aseguran que si la incorporación de cadmio en la dieta humana continúa aumentando, en los próximos 10 a 20 años se prevé un aumento en los casos de insuficiencia renal tubular particularmente en grupos de riesgo elevado tales como los diabéticos y personas con bajo consumo de vitamina C.

De acuerdo con algunos investigadores, la mayoría de programas de salud pública con relación a la acumulación de cadmio son preventivos debido a carencia de agentes quelantes terapéuticos eficaces que acomplejen y promuevan excreción del cadmio de los riñones. Por lo tanto se debe de regular por medio de normativas los niveles máximos de metales pesados en alimentos, basándose en la ingesta semanal de cadmio tolerable propuesta provisionalmente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es de 7 a 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por semana de peso corporal para cadmio y plomo (Martínez y Palacio, 2010).

1.2.6. Contaminación de cacao con cadmio

Los metales pesados en los alimentos tienen múltiples orígenes. En el caso del cacao es posible que la contaminación del producto se de en las etapas de cultivo, producción y transformación. Conocer el origen de la contaminación en alimentos es fundamental para determinar las acciones a seguir y para establecer la calidad del producto (FAO/OMS, 2014).

Los niveles de cadmio en granos de cacao, pueden variar considerablemente entre regiones, países y aún entre áreas dentro de un país. El área de menor concentración de cadmio en cacao es el África Occidental; sin embargo, los granos de cacao provenientes de otras regiones, como América del Sur tienen inherentemente mayores niveles de cadmio, debido a que, en estos países probablemente, la presencia del cadmio en el suelo depende del uso de fertilizantes u otras actividades industriales por ejemplo, extracción minera o contaminación ambiental (FAO/OMS, 2014)

La planta de cacao absorbe ligeramente los metales pesados que existen por naturaleza en los suelos y los concentra en las semillas grasosas. Según las regiones, el grado de concentración de metales pesados es diferente (Barrueta, 2013).

1.2.7. Antecedentes de contaminación de cadmio en semillas de cacao en América

La contaminación de metales pesados en alimentos ha generado un interés en diversos países como Honduras, que ha realizado un estudio de determinación del contenido de cadmio en granos de cacao y en suelos donde se cultiva; así también el país de Ecuador realizó estudios de determinación de cadmio en semillas, cascarilla y en hojas de la planta de cacao.

a) Estudio de determinación de cadmio en granos de cacao en Honduras (FHIA, 2011)

La fundación Hondureña de Investigación Agrícola Programa de Cacao y Agroforestería realizó un estudio en las principales zonas productoras de cacao de Honduras en los departamentos de Atlántida, Cortés, Colón, Gracias a Dios, Yoro y Santa Bárbara y se analizaron suelos que recién se están incorporando a producción de cacao en Olancho para determinar presencia de metales pesados. En las zonas en producción se tomaron muestras de cacao en fincas de productores, que abarca casi todo el litoral atlántico de Honduras.

Los resultados obtenidos muestran que el 31.6% de las muestras de cacao presentan niveles críticos mayores a 0.5 mg/kg de cadmio y un 15.4% entre 0.4 y 0.5 mg/kg que podría ser objetado por la industria. Sin embargo, los niveles de cadmio en el suelo en 79% de las muestras están dentro del rango considerado normal para suelos no contaminados (Véase Tabla 1.3).

Estudios realizados en Estados Unidos muestran que el factor que más contribuye a la concentración de cadmio en cultivos es el pH del suelo. En suelos ácidos la absorción es mayor, lo cual coincide con lo observado en el estudio, pues los suelos donde se cultiva cacao en Honduras son de tendencia ácida, típico de la región húmeda tropical. Experimentos realizados en Estados Unidos muestran que la aplicación de cal para corrección del pH disminuye significativamente la absorción de cadmio.

b) Determinación de cadmio en suelos, hojas, cascara y granos de cacao en Ecuador (Mite, Carrillo, y Durango, 2010)

Las muestras se colectaron en suelos de 142 fincas cacaoteras de Ecuador, estas representan 25 organizaciones beneficiarias de la Agencia de cooperación alemana (GTZ), distribuidas en las regiones del Litoral, Sierra y Oriente, donde se cultiva cacao en Ecuador y se analizaron suelos, hojas, cascara y almendras de cacao.

Los mayores valores de cadmio en suelos se determinaron en la provincia de Esmeralda y llegan a 0.88 mg/kg a los 5 cm de profundidad.

Los contenidos más elevados de cadmio en hojas de cacao en las muestras analizadas, corresponden a las provincias de El Oro, Guayas y Zamora Chinchipe, cuyos valores superan los 8 mg/kg de Cd. También hay provincias que la máxima concentración de cadmio en las hojas es bajo como es el caso de Cotopaxi, Pichincha y Santo Domingo, que muestran valores menores a 0.45 mg/kg de cadmio.

Las concentraciones máximas de cadmio encontradas en las cáscaras de cacao, fue en ocho provincias, de las cuales las muestras han sobrepasado los 2.5 mg/kg de cadmio, indicando que hay fincas que tienen cacao con bajos y altos niveles de contaminación. Los valores máximos encontrados es de 9.94 y 4.94 mg/kg de cadmio en la cáscara, que son los más elevados. El total de las muestras de cáscaras de cacao analizadas, presentan un promedio 1.01 mg/kg de cadmio.

Las concentraciones máximas encontradas en las almendras de cacao que presentan valores mayores a los 2.0 mg/kg ocurren en seis provincias. Las muestras han sobrepasado los valores críticos, pues hay fincas que tienen índices de contaminación elevados. En esta investigación se encontró un valor de 4.08 mg/kg de cadmio en la almendra, que es el más elevado. Le siguen provincias de Guayas y Manabí con 3.57 y 3.46 mg/kg de cadmio respectivamente.

1.3. Técnicas analítica para la determinación de cadmio en cacao y derivados

Existen diversas metodologías para la determinación de metales en alimentos, en su mayoría basadas en técnicas electroquímicas y espectroscópicas. Para cuantificar cadmio en alimentos, tales técnicas de detección incluyen la espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS), espectrometría de absorción atómica (ETAAS), espectrometría de adsorción atómica con horno de grafito (GF-AAS), espectrometría de fluorescencia atómica con generación de hidruros (HG-AFS), espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y Espectrofotometría de emisión de plasma con acoplamiento inductivo (FAO/OMS, 2014).

Existen también varias opciones para la preparación de la muestra que en muchos casos depende de la matriz y la técnica de medición empleada. Sin embargo para análisis de metales en alimentos son comunes los procesos de digestión húmeda y seca (Barrueta, 2013). La Espectrometría es una técnica instrumental que permite determinar el mayor número de elementos en una gran variedad de matrices, basada en la identificación de analitos mediante el espectro emitido o absorbido por los mismos, y se puede diferenciar entre atómica o de masas (FAO/OMS, 2014).

Con las metodologías analíticas descritas anteriormente para la determinación de metales pesados en alimentos, es importante seleccionar una técnica para la determinación de cadmio en chocolate de mesa, en este caso se estudiara la técnica espectrometría de absorción atómica, que posee un límite de detección para cadmio de 0.002 µg/L - 0.02 µg/L, teniendo en cuenta que estudios realizados en países como Honduras las concentraciones mínimas de cadmio encontradas en semillas de cacao son de 0.30 mg/kg.

1.3.1. Principios de la técnica espectrometría de absorción atómica (Barrueta, 2013)

La técnica hace uso de la espectrometría de absorción para evaluar la concentración de un analito en una muestra; se basa en gran medida en la ley de Beer-Lambert; los electrones de los átomos en el atomizador pueden ser promovidos a orbitales más altos por un instante mediante la absorción de una cantidad de energía (es decir, luz de una determinada longitud de onda). Esta cantidad de energía (o longitud de onda) se refiere específicamente a una

transición de electrones en un elemento particular, y en general, cada longitud de onda corresponde a un solo elemento.

Como la cantidad de energía que se pone en la llama es conocida, y la cantidad restante en el otro lado (el detector) se puede medir, es posible, a partir de la ley de Beer-Lambert, calcular cuántas de estas transiciones tiene lugar, y así obtener una señal que es proporcional a la concentración del elemento que se mide.

1.3.2. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.(Facultad de Ciencias Químicas, 2016)

- a) Fuente de radiación que emite una línea específica correspondiente a la necesaria para efectuar una transición en los átomos del elemento analizado.
- b) Nebulizador, que por aspiración de la muestra líquida, forma pequeñas gotas para una atomización más eficiente.
- c) Quemador, que por efecto de la temperatura alcanzada en la combustión y por la reacción de combustión misma, favorezca la formación de átomos a partir de los componentes en solución.
- d) Sistema óptico que separa la radiación de longitud de onda de interés, de todas las demás radiaciones que entran en dicho sistema.
- e) Detector o transductor, que sea capaz de transformar, en relación proporcional, las señales de intensidad de radiación electromagnética, en señales eléctricas o de intensidad de corriente.
- f) Amplificador o sistema electrónico, que como su nombre lo indica amplifica la señal eléctrica producida, para que en el siguiente paso pueda ser procesada con circuitos y sistemas electrónicos comunes.

- g) Sistema de lectura en el cual la señal de intensidad de corriente, sea convertida a una señal que el operario pueda interpretar (ejemplo: transmitancia o absorbancia). Este sistema de lectura, puede ser una escala de aguja, una escala de dígitos, un graficador, una serie de datos que pueden ser procesados a su vez por una computadora, etc.

1.3.3. Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (Barrueta, 2013)

El espectrómetro de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS), también llamada con atomización electrotérmica, permite trabajar con muestras de volumen muy reducido (inferior a 100 μL) o directamente sobre muestras orgánicas líquidas. Habitualmente se analizan muestras de material biológico de origen clínico (sangre, suero, orina, biopsias hepáticas, etc.). Por su elevada sensibilidad (niveles de partes por billón ppb), la técnica se aplica en la detección de metales en productos de alta pureza, como por ejemplo fármacos, alimentos (peces y carne) y productos industriales, y también en aguas de bebida y de acuíferos (determinación de la presencia de Cu, Cd, Pb, As, Hg, etc.).

La espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, utiliza un tubo de grafito calentado mediante electricidad para vaporizar y atomizar el analito a temperaturas de hasta 3000 $^{\circ}\text{C}$, antes de su detección. Se pueden analizar muestras de volúmenes de 10–50 μl . Como la totalidad de la muestra se atomiza en un volumen pequeño, se obtiene una alta densidad de átomos. Esto hace que este tipo de espectrometría sea sumamente sensible. Se han desarrollado métodos que permiten medir concentraciones por debajo de 0.1 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

Actualmente, la espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, es uno de los métodos más utilizados para determinar las concentraciones de metales pesados en alimentos. En la Figura 1.6 se muestra el esquema de la técnica de espectrometría de absorción atómica.

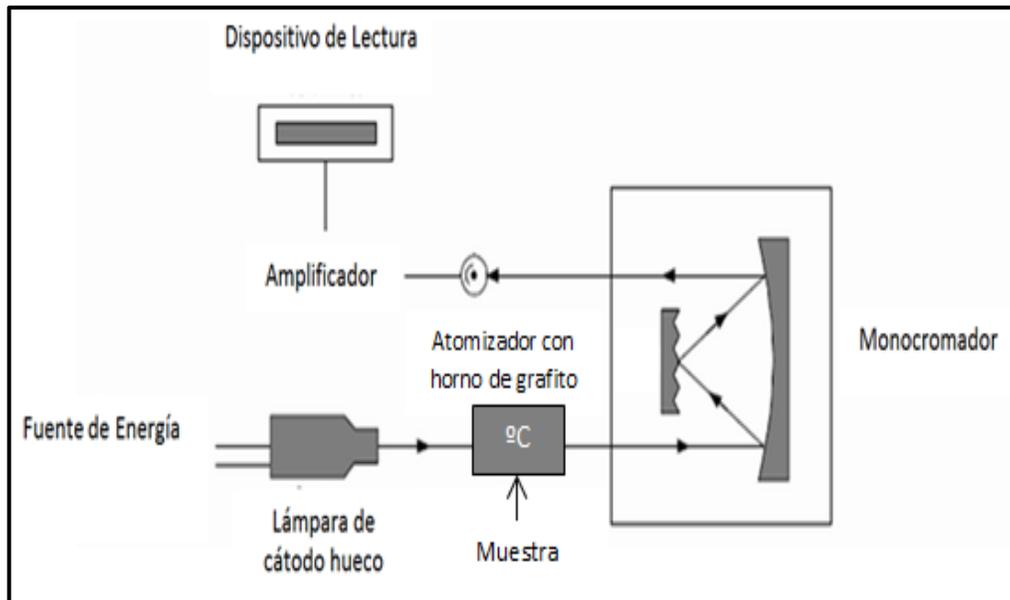


Figura 1.6 Esquema de la técnica de espectrometría de adsorción atómica

La espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, es un método con un buen límite de detección (0.002 – 0.02 µg/L) y alta sensibilidad presenta pocas interferencias, el tamaño reducido de la muestra, los precios y costos moderados de funcionamiento se considera el método más apropiado a ser utilizado en la determinación de cadmio en chocolate de mesa.

1.4. Clasificación y Especificaciones de chocolate de mesa

En El Salvador no existen normativas que regulen las especificaciones para la elaboración de chocolate de mesa, por lo tanto se toma como referencia la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, para cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao; y sus especificaciones sanitarias.

1.4.1 Definición de chocolate de mesa

Se entiende por chocolate de mesa, al producto homogéneo elaborado a partir de la pasta de cacao, azúcar sin refinar con un tamaño de partícula mayor de 70 micras con la adición de ingredientes opcionales (NOM-186-SSA1/SCFI-2013).

El chocolate de mesa, se presenta en el comercio en forma de tablillas individuales o en paquetes, y su color según el tipo será desde un café marcadamente oscuro, hasta otro de color café claro.

1.4.2. Clasificación de chocolate de mesa (NOM-186-SSA1/SCFI-2013)

El chocolate de mesa se clasifica en:

- a) Chocolate de mesa
- b) Chocolate de mesa semiamargo.
- c) Chocolate de mesa amargo u oscuro.

Este debe de cumplir con las especificaciones descritas en la Tabla 1.4

Tabla 1.4 Especificaciones y composición de chocolate de mesa

Producto	Manteca de cacao	Cocoa desgrasada totalmente	Solidos totales de cacao	Grasa vegetal diferente a la manteca de cacao
Chocolate de mesa	≥ 11.0	≥ 9.0	≥ 20.0	≤ 5.0
Chocolate de mesa Semiamargo	≥ 15.6	≥ 14.0	≥ 30.0	≤ 5.0
Chocolate de mesa amargo u oscuro	≥ 22.0	≥ 18.0	≥ 40.0	≤ 5.0

Fuente: (NOM-186-SSA1/SCFI-2013)

1.4.3. Calidad microbiológica en chocolate (Agell, s, f)

Los problemas microbiológicos de la industria chocolatera son particulares y van ligados a tres condiciones principales de los productos:

- a) Bajo contenido de agua (aw), alrededor 0.3
- b) Alta proporción de grasas y también de azúcar
- c) Tienen un pH alrededor de 5.5

Estas tres características son ventajosas puesto que dificultan el crecimiento de las bacterias y los hongos, y sobre todo de las levaduras osmófilas y de los mohos xerófilas. Pero en cambio, la viabilidad de las esporas de bacterias y de mohos no se ve afectada por estas

condiciones tan desfavorables; a la vez, la baja actividad de agua no permite tratamientos de temperatura/humedad en ciertos puntos del proceso, para eliminar cualquier bacteria presente.

1.4.4. Requerimientos microbiológicos

a) *Salmonella*

El principal riesgo microbiológico conocido en el chocolate es la presencia de *Salmonella*. No es propia del cacao, ni del medio en que se cultiva, sino que es de origen fecal humano, y es introducida en algún momento del proceso de desgranado del cacao con las manos y cuando giran los granos durante el secado, que a veces lo hacen con los pies (Agell, s.f).

La única etapa en que se puede destruir es durante el tostado de los granos. Posteriormente, en el proceso del chocolate deberá tomarse todas las precauciones para minimizar el peligro de la introducción de *Salmonella*, ya que no pasará por proceso capaz de eliminarla. La actividad de agua en el chocolate está alrededor 0.3 y el pH de 5.5, así que la *Salmonella* no se desarrollará, pero sí que podrá sobrevivir (Agell, s.f). En la Tabla 1.5 se presentan las condiciones de crecimiento de la *Salmonella*.

Tabla1.5 Condiciones de crecimiento de la *Salmonella*

	Mínimo	Optimo	Máximo
Temperatura °C	5.2	35-43	46.2
pH	3.8	7-7.5	9.5
Actividad de agua	0.93	0.99	>0.99

Fuente: (ELIKA, 2013)

b) Coliformes totales

Los coliformes constituyen un grupo heterogéneo con hábitat primordialmente intestinal para la mayoría de las especies que involucra. El grupo de bacterias coliformes totales comprende todos los bacilos Gram negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 horas a 35°C ± 1°C. Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente:

Enterobacter, Escherichia, Citrobacter y Klebsiella (A. Camacho, M.Giles, A. Ortigón, M.Palao, B.Serrano y O.Velázquez, 2009).

El grupo de coliformes fecales, está constituido por bacterias Gram-negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h. de incubación a $44.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$. Este grupo no incluye una especie determinada, sin embargo la más prominente es Escherichia coli. Cuando se hace un control rutinario es recomendable determinar coliformes por técnicas rápidas, siempre que aseguren una fiabilidad mínima del 95%. En caso de detección, debe buscarse específicamente *Salmonella*. Si la presencia se confirma, debe rechazarse el lote. (A. Camacho, M.Giles, A. Ortigón, M.Palao, B.Serrano y O.Velázquez, 2009).

c) Especificaciones microbiológicas de *Salmonella* y coliformes en chocolate de mesa

En la Tabla 1.6 se presentan las especificaciones microbiológicas para cacao tostado, chocolate y sus derivados, según la Norma Oficial Mexicana (NOM-186-SSA1/SCFI-2013)

Tabla 1.6 Especificaciones microbiológicas para cacao tostado, chocolate y sus derivados

Microorganismos	n1	c2	m3	M4	Clase del plan
Coliformes totales UFC/g	5	2	10	100	3
<i>Salmonella spp</i> en 25g	10	0	0	---	2

Fuente: (NOM-186-SSA1/SCFI-2013, 2013)

Dónde:

n1: número de muestras a ser analizadas.

c2: máximo número admisible de unidades de muestras defectuosas en un plan de dos clases, o de unidades de muestras marginalmente aceptables en un plan de tres clases.

m3: un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.

M4: un límite microbiológico que separa, en un plan de tres clases, la calidad marginalmente aceptable de la defectuosa (NOM-186-SSA1/SCFI-2013)

1.5. Proceso de fabricación de chocolate de mesa

La fabricación de chocolate de mesa se efectúa de dos maneras diferentes, una de ellas es el que se realiza en la industria y la otra se produce de manera artesanal y se comercializa en El Salvador sin registro sanitario.

1.5.1. Proceso de fabricación industrial (Chica Cardona, 2003)

A continuación se describen las etapas del proceso de fabricación de chocolate de mesa elaborado industrialmente.

En la Figura 1.7 se presenta un diagrama del proceso de fabricación de chocolate de mesa industrial.



Figura 1.7 Proceso de fabricación de chocolate de mesa industrial

a) Limpieza

Las semillas brutas tienen polvo superficial, fibras de arpillera y a veces piedras pequeñas contaminantes; éstas se eliminan, antes de continuar el proceso, mediante una diversidad de cepillos mecánicos rotatorios, chorros de aire y tamices. En esta etapa se eliminan las semillas inmaduras y se dispone un detector para retirar todo tipo de fragmento metálico.

b) Tostado

Etapa crítica en la elaboración del chocolate, desde el punto de vista tecnológico. Las funciones del tostado son:

1. El secado de los cotiledones.
2. La eliminación de los componentes indeseables del sabor y el aroma.
3. El desarrollo del sabor, aroma y color finales.
4. La liberación de la cubierta.

El tostado es también una etapa crítica para determinar la seguridad del cacao, inactivando con este proceso la *Salmonella* y otros microorganismos presentes en él.

c) Descascarillado y Aventado

Es un proceso combinado en el que se separa la cascarilla de los cotiledones, estrujando las semillas para que éstas se liberen. El aventado aprovecha las diferencias de densidad entre el cotiledón y la cubierta, para realizar la separación.

Los equipos están compuestos por tamices de malla decreciente y en cada etapa las cubiertas se eliminan por succión, mientras los cotiledones son conducidos a tolvas de salida.

d) Molienda

En esta etapa se agregan los demás ingredientes y el cacao se convierte en partículas de varios milímetros de diámetro; se debe lograr un tamaño que depende del tipo de chocolate, pero en general la mayoría de las partículas deben ser inferiores a 40 micras.

Durante este proceso, con molinos de disco, se libera la grasa, y se funde por elevación de la temperatura a más de 34°C (punto de fusión de la manteca de cacao) por las fuerzas de fricción. La parte no grasa se reduce hasta obtener la pasta de cacao.

e) Conchado

Debido a la presencia de compuestos químicos indeseables que dan lugar a sabores ácidos en el chocolate, éste se debe conchar; esto significa eliminar tales sabores y desarrollar a la vez los agradables. La función de la máquina de conchar es remover el chocolate líquido suavemente, es un proceso vital durante el cual el sabor del chocolate se enriquece.

f) Templado

Esta etapa tiene como finalidad dar al chocolate de mesa, la estabilidad física y en particular la resistencia al calor y a la rotura; contribuye a impedir la formación de “Escarcha de grasa” o “Bloom”, y le da la capacidad de adquirir un brillo sedoso, luego de moldeado.

g) Moldeado y Empacado

Después de las etapas anteriores, la masa pasa a ser moldeada en superficies metálicas pulidas. Luego, se empaca higiénicamente, se embala y se almacena en bodegas desde donde se despacha a los distribuidores.

1.5.2. Proceso de fabricación de chocolate de mesa artesanal (Quintero, 2009)

El chocolate se elabora a base de la semilla de cacao, cada fruto contiene en su interior entre 20 y 50 semillas, en la Tabla 1.7 se describen el proceso de fabricación artesanal de chocolate de mesa.

Tabla 1.7 Proceso de fabricación artesanal de chocolate de mesa

Etapa	Actividades del proceso de elaboración artesanal de chocolate de mesa	
1		Desgranado de la mazorca de cacao.
2		Para preparar el chocolate primero se cocinan las semillas y luego con una piedra de moler se machucan para quitarle la cascara.
3		Agitar en una batea para separar el grano de la cascara
4		Preparar la mezcla de azúcar, la medida es de 6 a 1, por ejemplo 6 libras de azúcar por 1 libra de semilla de cacao. La semilla a pesar que huele a chocolate tiene un sabor amargo, de ahí la cantidad de azúcar para endulzar
5		Se le añade nuez moscada y canela para evitar pesadez y malestares en el estómago.
6		Luego se mezclan los ingredientes y se llevan al molino.
7		En el molino, se coloca la mezcla en una tolva y se obtiene la pasta de chocolate
8		Al final del proceso se moldea la pasta y se da forma de tabletas que son envueltas en papel de empaque para venderlas al público

Fuente: (Quintero, 2009)

1.6. Consumo de cacao a nivel mundial (Agell, s.f.)

La demanda mundial de cacao, ha pasado de 1 millón de toneladas a un estimado de 4.3 millones de toneladas durante el período 1961 - 2014, una tasa compuesta anual del 2.7 por ciento. Los principales países productores de cacao son Costa de Marfil, Brasil, Ghana, Nigeria y Camerún. Ecuador, México, República Dominicana y Colombia son también productores notables; Ghana, produce el cacao de la más alta calidad.

El consumo de cacao a nivel mundial se ha incrementado, por lo tanto países del tercer mundo han empezado al desarrollo del cultivo de cacao como una fuente de ingresos en la economía local.

1.7. Producción de cacao y derivados de cacao en El Salvador (Union Europea, s.f.)

El Salvador produce alrededor de 200 toneladas métricas; cacao con predominio de cacao criollo y trinitario de muy alta calidad. De acuerdo con estudios y reportes del Ministerio de Agricultura, la producción anual de El Salvador cubre aproximadamente el 20% del consumo interno de 1,000 Tm por lo que el país se ve obligado a importar de Guatemala, Nicaragua y Honduras.

La cadena de producción del cacao se suele dividir en 3 eslabones de acuerdo a cada etapa del proceso. De esta forma, los eslabones identificados dentro de la cadena productiva de cacao en El Salvador son:

- a) Productivo
- b) Transformación o industrialización
- c) Comercialización.

El eslabón primario hace referencia a la siembra, cosecha y post cosecha de cacao. A este pertenecen todos los agricultores o dueños de las tierras y los productores de insumos necesarios para la producción del cacao. El eslabón de transformación o industrialización, es el núcleo dinámico de la cadena, altamente concentrado en pocas unidades de producción; a este eslabón pertenecen las industrias procesadoras de cacao y productoras de

chocolates, que en el Salvador están concentradas en 4 empresas importantes que lo procesan y exportan, las cuales son: Chocolatera Shaws, Chocolatera Melher, PROINCA y FACEMA. Dichas compañías poseen acceso a los mercados nacionales e internacionales del cacao y de chocolates. Exportan aproximadamente \$4 millones de dólares en productos transformados o derivados de cacao.

El mayor productor de cacao a nivel nacional es la hacienda La Carrera con 250 manzanas cultivadas y una producción promedio de 7 quintales de cacao por manzana. ESCACAO es la cooperativa con mayor relevancia por tener un banco con la mayor variedad genética de cultivos de cacao en El Salvador.

1.7.1. Flujos comerciales de exportación de productos a base de cacao de El Salvador

El Salvador exporto alrededor de \$1.5 millones de dólares en 2015 en concepto de chocolate y demás preparaciones alimenticias que contengan cacao: los demás, en bloques, tabletas o barras: sin rellenar, estos resultados se observan en la Tabla 1.8 de exportaciones en dólares de El Salvador de productos a base de cacao.

Tabla 1.8 Exportación en dólares de El Salvador de productos a base de cacao

Importadores	Valor exportado en 2011 (\$)	Valor exportado en 2012 (\$)	Valor exportado en 2013 (\$)	Valor exportada en 2014 (\$)	Valor exportado en 2015 (\$)
Honduras	676,000	911,000	800,000	812,000	840,000
Estados Unidos de América	345,000	516,000	521,000	426,000	596,000
Costa Rica	86,000	109,000	102,000	107,000	110,000
Belice	0	0	4,000	12,000	10,000
Guatemala	24,000	22,000	0	0	1

Fuente: (TRADE MAP, 2015)

Países de América a los cuales ha exportado El Salvador son Brasil, Chile, México y países europeos pero en cantidades relativamente bajas si se comparan contra los principales socios comerciales. Como se observa en la Tabla 1.9 las exportaciones de chocolate y demás preparaciones alimenticias que contengan cacao bajo partida arancelaria 1806.

Tabla 1.9 Exportación en dólares, de chocolate y demás preparaciones alimenticias que contengan cacao

Código	Descripción del producto	El Salvador exporta hacia América Latina y el Caribe			El Salvador exporta hacia el mundo		
		2013 (\$)	2014 (\$)	2015 (\$)	2013 (\$)	2014 (\$)	2015 (\$)
1806	Chocolate y demás preparaciones alimenticias que contengan cacao.	4,317	4,046	3,859	5,183	4,787	4,851
1801	Cacao en grano, entero o partido, crudo o tostado.	0	8,000	85,000	42,000	30,000	99,000
1805	Cacao en polvo sin adición de azúcar ni otro edulcorante.	37,000	37,000	40	37,000	36,000	40,000
1804	Manteca, grasa y aceite de cacao.	0	0	0	0	0	0
1803	Pasta de cacao, incluso desgrasada.	0	0	0	34,000	35,000	69,000

Fuente: (TRADE MAP, 2015)

1.8. Desarrollo del cultivo de cacao en El Salvador

En El Salvador la producción y comercialización de cacao no ha tenido mucho auge a lo largo de la historia, ya que, básicamente, es una producción muy doméstica, estrictamente limitada y sin plantaciones comerciales registradas. Sin embargo, en la actualidad se ha podido estimar un área cultivada de aproximadamente 500 manzanas (FUNDESYRAM, 2016).

En este sentido, en la actualidad existen dos organizaciones de productores que están tratando de fortalecer el sector en el país: ESCACAO (Sociedad Cooperativa de Productores de Cacao de El Salvador) y AABEX-CACAO (Asociación Agropecuaria de Beneficiadores y Exportadores de Cacao). Son muy pocos los productores que obtienen provecho de sus plantaciones, debido a que éstas se encuentran afectadas por moniliasis del cacao y el material genético es muy variable, poco productivo y poco resistente a enfermedades. De esta forma, los factores expuestos resultan en una baja producción de cacao a nivel nacional, creando una gran dependencia de las importaciones del mismo, para

poder satisfacer la demanda de las empresas transformadoras; las cuales deben suplir su demanda con cacao (FUNDESYRAM, 2016).

La Universidad de El Salvador como aporte al cultivo de cacao, ha realizado plantación de cacao criollo en el vivero de la Estación Experimental y de práctica de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, la cual consiste en el establecimiento de 600 plantas de cacao (*Theobroma cacao* L) en la estación experimental de la Universidad de El Salvador, con el propósito de contribuir con germoplasma de buenas características para futuras investigaciones; Para establecer las 600 plantas de cacao, se recolecto frutos sanos y de buenas características de diferentes orígenes, con el fin de buscar porta injerto de buenas características, además se injerto estas plantas con clones internacionales (Proyeccion Social Facultad de Ciencias Agronomicas, 2016)

El Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en conjunto con la mesa nacional de cacao de El Salvador, han desarrollado una guía de conceptos básicos de genética en cacao, para su aplicación en la caracterización de germoplasma de cacao nativo de El Salvador; la principal orientación de esta investigación ha sido evaluar y conocer la situación de *Theobroma cacao* autóctono en El Salvador. Con mira a su rescate, caracterización, conservación y promoción comercial; se ha venido trabajando en el censo de parcelas y pequeñas fincas de cacao autóctono y recopilando información al igual que la documentación de las iniciativas de cacao de El Salvador (Castañeda Monroy, Aranzazu Hernández, Hernández Lovato, Quintanilla Monjaras, y Morán Rodriguez, 2016).

Se espera que con este primer documento técnico sobre conceptos básicos de genética en cacao, se pretende dar un primer realce al germoplasma de cacao que aún persiste en nuestro país, y hacerlo conocer al mundo para despertar un verdadero interés y consolidar programas de apoyo a este cultivo como un motor de crecimiento económico y favorecedor de la biodiversidad, y el desarrollo de nuestro país (Castañeda Monroy, Aranzazu Hernández, Hernández Lovato, Quintanilla Monjaras, y Morán Rodriguez, 2016).

CAPÍTULO II

DISEÑO METODOLÓGICO

2. DISEÑO METODOLÓGICO

A continuación se describe el procedimiento que se siguió para la toma de muestras de chocolate mesa que se comercializa en el área metropolitana de San Salvador, así como la metodología para el tratamiento de las muestras previo al análisis de determinación de cadmio en chocolate de mesa.

2.1. Diseño metodológico del muestreo

Para realizar el muestreo se hizo uso de herramientas estadísticas, con el fin de determinar el tamaño de las muestras de chocolate de mesa que se comercializan en el área metropolitana de San Salvador. El área metropolitana de San Salvador se localiza en la zona central del país, y está conformada por catorce municipios, doce de los cuales pertenecen al departamento de San Salvador y dos corresponden al departamento de La Libertad (COAMSS/OPAMSS, 2013); la Tabla 2.1 muestra el número de habitantes del área metropolitana de San Salvador.

Tabla 2.1 Número de habitantes del área metropolitana de San Salvador

Área Metropolitana de San Salvador	
Municipio	Población (Hab)
Antigua Cuscatlán	33,698
Santa Tecla	121,908
Apopa	131,286
Ayutuxtepeque	34,710
Cuscatancingo	66,400
Delgado	120,200
Ilopango	103,862
Mejicanos	140,751
Nejapa	29,458
San Marcos	63,209
San Martín	72,758
San Salvador	316,090
Soyapango	241,403
Tonacatepeque	90,896
TOTAL	1,566,629

Fuente: Datos del VI Censo de Población y V de Vivienda, Dirección General de Estadística y Censos, DIGESTYC, Ministerio de Economía, 2007 y Oficina de Planificación del Área Metropolitana de San Salvador, 2013.

Como se observó en la Tabla 2.1 el Municipio de San Salvador cuenta con el mayor número de habitantes, el cual es 71.45 km² y 316,090 habitantes, por lo tanto es el municipio más representativo para la toma de muestras.

2.1.1. Marco muestral

El marco muestral lo constituyen las diferentes marcas de chocolate de mesa de producción industrial y artesanal, que se comercializan en el municipio de San Salvador. Para determinar el marco muestral se hizo uso de los muestreos:

- a) Deliberado: De forma deliberada se hizo uso del internet para buscar el listado de supermercados y mercados en el municipio de San Salvador, donde se comercializa chocolate de mesa.
- b) Dirigido: Se seleccionaron solamente las sucursales del municipio de San Salvador, identificando las diferentes marcas de chocolate de mesa que se comercializa en los diferentes establecimientos seleccionados (Bonilla, 1997). En la Tabla 2.2 se presenta el total de supermercados y mercados del municipio de San Salvador.

Tabla 2.2 Total de supermercados y mercados del municipio de San Salvador

Línea de supermercado	Código de supermercado /mercado	Nº de sucursales
Línea de supermercado 1 (Súper Selectos)	S1	23
Línea de supermercado 2 (Despensa de Don Juan)	S2	4
Línea de supermercado 3 (Despensa Familiar)	S3	3
Línea de supermercado 4 (Walmart)	S4	1
Mercados Municipales	S5	7
	TOTAL	38

La Tabla 2.3 muestra las diferentes marcas de chocolate de mesa comercializado en el área metropolitana de San Salvador.

Tabla 2.3 Chocolate de mesa comercializado en el área metropolitana de San Salvador

Marcas de chocolate	Código de muestreo
Chocolate Criollo	M1
El Buen Chocolate	M2
Chocolate Súper	M3
Peka Maya	M4
El Negrito	M5
Artesanal	M6

2.1.2. Determinación del tamaño de la muestra (Bonilla, G. 1997)

Para la determinación del tamaño de la muestra se utilizó el muestreo probabilístico aleatorio simple, debido a que los 38 establecimientos donde se comercializa cada una de las marcas de chocolate de mesa (Ver Tabla 2.2), tienen la misma probabilidad de formar parte de la muestra; para este caso se tomó una probabilidad de éxito y un porcentaje de error permisible del 50%.

Para obtener la expresión máxima de muestra se calcula n:

$$n = \frac{p \cdot q}{E^2} \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Dónde:

n = tamaño de muestra máximo

p = probabilidad del éxito, p = 0.5

q = probabilidad de fracaso, q = 0.5

E = error permisible, 0.5

Desarrollo

$$n = \frac{0.5 \times 0.5}{0.5^2} = 100$$

Cálculo del tamaño de muestra definitivo (número de sucursales que se visitaran)

$$n' = \frac{n}{\left(1 + \frac{n}{Np}\right)} \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

Dónde:

n' = tamaño de muestra definitivo

n = tamaño de muestra máximo, $n = 100$

Np = tamaño de la población, $Np = 38$ Establecimientos

Desarrollo

$$n' = \frac{100}{\left(1 + \frac{100}{38}\right)}$$

$$n' = 27$$

El tamaño de la muestra es un total de 27 puntos de venta; para determinar los supermercados y mercados que se visitaron para la toma de muestra, se analizó los 38 puntos de venta identificando las marcas de chocolate de mesa que se comercializa en cada uno de ellos, véase Tabla 2.4.

Tabla 2.4 Supermercado y mercados que comercializan chocolate de mesa en el municipio de San Salvador.

Supermercados y mercados	Sucursales	Marca
Grupo Callejas S.A. de C.V. (Línea comercial S5)	1. Beethoven	M1 M2
	2. Escalón (Paseo)	
	3. Gigante	
	4. Los santos	
	5. San Benito	
	6. Masferrer	
	7. Santa Emilia	
	8. Miralvalle	
	9. Miralvalle Motocross	
	10. San Luis	
	11. Trigueros	
	12. España	
	13. Metrocentro 8va Etapa	
	14. Metro Sur	

(Continuación)

Tabla 2.4a. Supermercado y mercados que comercializan chocolate de mesa en el municipio de San Salvador.

Supermercados y mercados	Sucursales	Marca
Grupo Callejas S.A. de C.V. (Línea comercial S5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Metro Centro 6ta Etapa 2. Centro Arce 3. Centro Antel 4. Centro 5. San Miguelito 6. San Miguelito Don Rúa 7. Cima 8. Autopista Sur 9. San Jacinto 	M1 M2
Operadora del Sur S.A DE C.V (Línea comercial S2)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Escalón Norte 2. Héroes (Metro Sur) 3. Terraza 4. Cima 	M1 M2 M3 M4
Operadora del Sur S.A DE C.V (Línea comercial S3)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Darío 2. Centro 3. San Jacinto 	M3 M4
Operadora del Sur S.A DE C.V (Línea comercial S4)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Walmart Escalón 	M1 M3 M4
Mercados municipales (Línea comercial S5)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mercado Central 2. Mercado Tinetti 3. Mercado San Jacinto 4. Mercado Tiendona 5. Mercado Monserrat 6. Mercado San Antonio 7. Mercado San Miguelito 	M5 M6

Conociendo los puntos donde se comercializa las diferentes marcas de chocolate de mesa, se determinó por método aleatorio de selección (Ver Anexo A) los 27 supermercados y mercados que se visitaron para la toma de muestras, la Tabla 2.5 presenta las sucursales a visitar para la toma de muestras de chocolate de mesa.

Tabla 2.5 Sucursales a visitar para la toma de muestras de chocolate de mesa

Marca de Chocolate	Sucursal	Dirección
M1	Selectos Escalón	Paseo General Escalón entre 77y 79 Av.
	Selectos Metrocentro	Metrocentro 6a Etapa, S.S
	DDJ Escalón Norte	Prolongación Alameda Juan Pablo II y avenida Napoleón Viera
	Selectos San Luis	Calle San Antonio Abad y Av. Izalco
M2	Selectos Miralvalle	Bulevar Constitución y Condominio Balam Acab.
	Selectos España	Entre Avenida España y Tercera Calle Poniente.
	Selectos Autopista Sur	Centro Comercial Autopista Sur # 52
	Selectos Trigueros	25 Av. Norte No 1138, S.S.
M3	DDJ La Cima	Calle Antigua a Huizucar y Calle San Nicolás, Urbanización La Cima II, San Salvador
	DF Darío	7 Avenida Sur y Calle Rubén Darío N° 510
	Walmart Escalón	Colonia Escalón entre la calle nueva 1 y la calle nueva 2, antiguo Híper Europa.
M4	DDJ la Terraza	29 Calle Oriente Y 10A. AV. Norte, San Salvador
	DDJ Héroes	Centro Comercial Metro Centro
	DF San Jacinto	San Jacinto N°13 al poniente, 10 avenida sur, San Salvador.
M5	Mercado Central Establecimiento 1 Establecimiento 2 Establecimiento 3 Establecimiento 4	12 Calle poniente y 17 Avenida Norte
M6	Mercado San Miguelito Establecimiento 1 Establecimiento 2 Establecimiento 3	Primera Avenida norte , San Salvador
	Mercado San Jacinto Establecimiento 1 Establecimiento 2	Avenida Cuba, San Salvador
	Mercado la Tiendona Establecimiento 1 Establecimiento 2 Establecimiento 3 Establecimiento 4	Reloj de flores, San Salvador

En total se tendrá 6 muestra compuesta por cada una de las marcas de chocolate de mesa que se comercializan en la zona metropolitana de San Salvador.

2.1.3. Protocolo de muestreo para análisis de cadmio

a) Toma de muestra en Supermercado.

Para la toma de muestra de chocolate de mesa en los supermercados seleccionados se procedió mediante los siguientes pasos:

1. Identificar la ubicación del estante donde se comercializa el chocolate de mesa en el supermercado.
2. Identificar la marca a muestrear y la cantidad de esta en el estante.
3. Observar y anotar las condiciones generales en que se encuentra la marca de chocolate de mesa a muestrear (Ejemplo: Estante limpio, evidencia de presencia de plagas, contaminación cruzada de otros productos, etc.).
4. Identificar y clasificar por número de fecha de elaboración las muestras que se encuentran en el estante. Verificar la fecha de vencimiento, esta debe de ser 5 meses después de la fecha del muestreo.
5. Si todas las muestras pertenecen a diferentes fechas de elaboración se procederá a seleccionar una muestra compuesta, tomando 5 muestras de chocolate de mesa del estante, como puede observarse en la Figura 2.1.

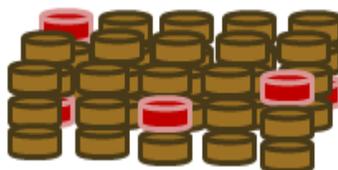


Figura 2.1 Selección de muestras de chocolate de mesa en el estante (Muestras de color rojo).

6. Luego de las 5 muestras seleccionadas se tomara un total de 2 muestras de manera aleatoria, como puede observarse en la Figura 2.2 (Muestras a seleccionar de color café) estas 2 muestras formaran parte de la muestra compuesta a tomar.

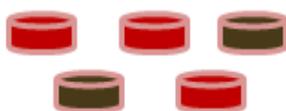


Figura 2.2 Selección de las muestras compuestas

7. Depositar las muestras seleccionadas en su respectiva bolsa ziploc debidamente rotulada con su respectivo código de muestreo. Llenar la Tabla 2.6 para el control de la toma de muestras. La Tabla 2.6 presenta la hoja de registro para la toma de muestras de chocolate de mesa en supermercados.

Tabla 2.6 Hoja de registro para la toma de muestras de chocolate de mesa en supermercados

CODIGO DE MARCA	CODIGO DE SUPERMERCADO	DIRECCION DEL ESTABLECIMIENTO DE VENTA			EMPAQUE (IMAGEN)
LUGAR DE FABRICACION	FECHA DE ELABORACION	FECHA DE VENCIMIENTO	Nº LOTE	Nº DE REGISTRO	
PESO UNITARIO	CANTIDAD DE MUESTRAS TOMADA	OBSERVACIONES			
FECHA:	HORA:	RESPONSABLE: _____		FIRMA: _____	

8. Las muestras deben de trasladarse inmediatamente al laboratorio para ser almacenadas.

Para los supermercados donde se tomara muestras de chocolate de mesa de la misma marca, deben de ser de diferentes fechas de producción, para tener una mayor representación de la muestras en estudio

b) Toma de muestra en mercados.

Pasos para la toma de muestras de chocolate de mesa artesanal en mercados municipales seleccionados.

1. Identificar en el mercado los puestos donde se comercializa chocolate de mesa de la marca asignada para la toma de muestra.
2. Seleccionar de manera aleatoria, un puesto del mercado donde se comercializa la marca asignada de chocolate de mesa para la toma de muestra.
3. Observar y anotar las condiciones generales en que se encuentra la marca de chocolate de mesa a muestrear. (Ejemplo: Local limpio, evidencia de presencia de plagas, contaminación cruzada de otros productos, etc.).
4. Seleccionar de manera aleatoria una muestra de chocolate (una tablilla, un paquete de chocolate, etc.)
5. Preguntar al vendedor sobre la procedencia del chocolate artesanal.
6. Depositar las muestras seleccionadas en su respectiva bolsa ziploc debidamente rotulada, con su respectivo código de muestreo.
7. Llenar la Tabla 2.7 para el control de la toma de muestras en mercado.

Tabla 2.7 Hoja de registro para la toma de muestras de chocolate de mesa en mercado

CODIGO DE MARCA	CODIGO DE MERCADO	DIRECCION DEL ESTABLECIMIENTO DE VENTA		EMPAQUE (IMAGEN)
LUGAR DE FABRICACION		OBSERVACIONES		
PESO UNITARIO	CANTIDAD DE MUESTRAS TOMADA	FECHA	HORA	
RESPONSABLE: _____				FIRMA: _____

8. Las muestras deben de trasladarse inmediatamente al laboratorio para ser almacenadas.

c) Conservación y transporte de las muestras de chocolate de mesa

Las muestras deben manejarse y transportarse al laboratorio en una caja plástica de color oscuro, para evitar su exposición a la luz solar directa y que estas no se oxiden. Transportar las muestras de tal manera que se impida su ruptura, alteración o contaminación, no agitar la caja con las muestras.

Evitar transportar una cantidad excesiva, ya que la presión las deformara o pueda originar derrames y provoque que el contenido se ponga en contacto con el exterior de la envoltura.

Las muestras de chocolate no son perecederas, pero se debe evitar que se humedezcan o contaminen mediante el transporte, ya que estos factores pueden influir en el almacenamiento de las muestras y contribuir a que su vida de anaquel disminuya.

Para la toma de muestras de chocolate de mesa se debe de efectuar por la tarde, en el siguiente intervalo de hora 4 p.m. a 8:00 p.m. ya que esta hora la temperatura del ambiente es baja, no se debe de efectuar el muestreo al medio día, porque el calor podría derretir las muestras durante su transporte.

Teniendo en cuenta que en cada semana se trabajara en el laboratorio con lotes de 8 muestras, y para no almacenar las muestras por periodos largos, esta se tomara los días domingos, recolectando un total de 8 muestras de chocolate de mesa.

d) Almacenamiento de las muestras de chocolate de mesa en el laboratorio

En el laboratorio almacenar las muestras en una caja plástica de color oscuro que impida el paso de la luz, para evitar que las muestras se vuelvan rancias. Estas deben de almacenarse en un lugar fresco a temperatura ambiente (no exceder temperaturas de 45°C), evitar altas temperaturas y el contacto directo con la luz solar.

La caja con las muestras debe de estar ubicada en un lugar limpio, libre de humedad, protegida contra la luz y altas temperaturas. El tiempo de almacenamiento no debe exceder la fecha de vencimiento de las muestras.

2.1.4. Protocolo de muestreo para análisis microbiológico.

Para los análisis microbiológico de *Salmonella* y Coliformes totales, se tomaron las muestras de los distintos mercados y supermercados donde se comercializa las diferentes marcas de chocolate de mesa, así también; se tomaron muestras de chocolate del centro de producción donde se elabora para su comercialización, la selección de los puntos de venta a muestrear se determinó mediante método aleatorio de selección.

En la Tabla 2.8 se muestra las líneas de supermercados a visitar para la toma de muestras de análisis microbiológico.

Tabla 2.8 Línea de supermercados a visitar para la toma de muestras de análisis microbiológico

Código de Marca	Línea de Supermercado/ Mercado a Muestrear
M1	Centro de Producción
M2	Centro de Producción
M3	Walmart Escalón
M4	DDJ Escalón Norte
M5	Mercado central SS
M6.1	Mercado central SS
M6.2	Mercado San Jacinto
M6.3	Mercado San Jacinto
M6.4	Mercado La Tiendona

a) Consideraciones

1. La persona encargada de realizar el muestreo no debe de estar enfermo.
2. Utilizar sanitizante para manos (alcohol gel) antes de tomar la muestra.
3. Colocar la fecha y hora de la toma de muestra.
4. Los recipientes para las muestras debe de ser de polipropileno y libre de sustancias que pudieran afectar la viabilidad de los microorganismos.
5. Debe cuidarse que las condiciones donde se colecte y se transporte la muestra (bolsas de polipropileno deben estar nuevas y sin rasgaduras) que no pueda dar lugar a la contaminación de las mismas.

6. Las muestras deben entregarse al laboratorio que efectuara el análisis lo más rápido posible.
7. La muestra debe de ser transportada en su empaque original a temperatura ambiente, siempre y cuando ésta no exceda de 45°C.

Para el análisis microbiológico de las nueve marcas de chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador se requiere un peso mínimo de 50 gramos por muestra de chocolate.

2.2. Preparación de muestra compuesta

Con las muestras de chocolate de mesa recolectadas se procedió a realizar la preparación de las muestras compuesta, debido a que el tamaño de la muestra sobrepasa la cantidad necesaria para realizar los análisis de laboratorio, se debe de realizar el método de cuarteo descrito a continuación.

1. Triturar y homogenizar las muestras de una misma marca.
2. Colocar la muestra homogenizada sobre una superficie plana y extender en una capa gruesa y uniforme.
3. Dividir en 4 partes iguales
4. Descartar dos de los cuartos opuestos entre sí eliminando el material contenido en ello.
5. Mezclar las dos cuartos restantes del paso 4, hasta homogenizar la muestra y extender nuevamente sobre la superficie de manera plana y uniforme.
6. Repetir la operación de reducción y homogenización (pasos del 2 al 5) hasta conseguir el peso o tamaño adecuado de la muestra. Para una mejor descripción del método se describe los pasos en la Figura 2.3

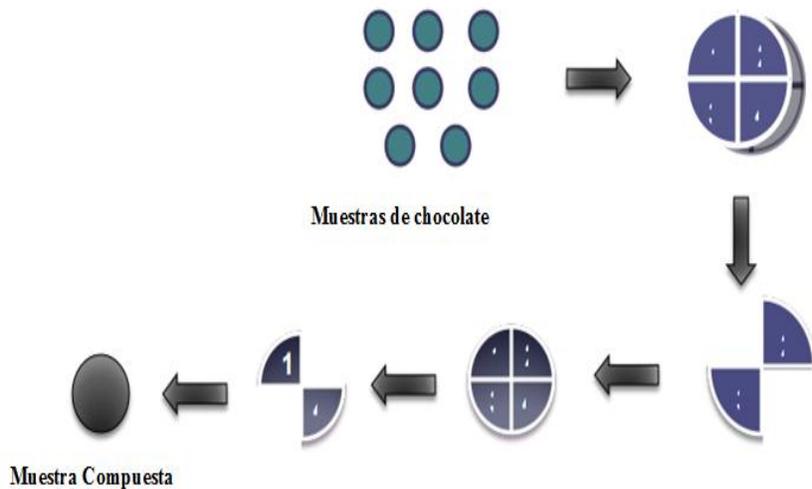


Figura 2.3 Preparación de una muestra compuesta

Con las diferentes muestras compuestas por cada una de las marcas de chocolate de mesa, se sometieron al método de análisis para determinación de cadmio en chocolate de mesa descrito en el capítulo 3; y para ello se describe la base y la implementación del método que las muestras de chocolate de mesa sufrirán para sus respectivos análisis.

2.3. Implementación del método de análisis

Para la determinación de cadmio en chocolate de mesa se desarrolla y adapta el método AOAC 999.11 indicado para la determinación de plomo, cadmio, cobre, hierro y cinc en alimentos, medido en espectrometría de adsorción atómica previo incineración de la muestra.

2.3.1. Método de la AOAC 999.11

Procedimiento de preparación de muestra, digestión por vía seca método propuesto por AOAC 999.11 (Association of Official Analytical Chemists, 2002).

a) Pre-tratamiento

Homogenizar el producto si es necesario, utilizando equipo no contaminante.

b) Secado

En un crisol, pesar 20-30g de la porción de ensayo de 0.01g más cercano. Secar la muestra de ensayo, en un baño de agua, o un hot plate caliente a 100 °C.

c) Incineración horno programable

1. Introducir la cápsula en el horno a la temperatura inicial, no inmediatamente superior a los 100°C. Aumentar la temperatura a una velocidad máxima de 50 °C / h hasta 450 °C. Dejar reposar por lo menos 8 horas o toda la noche.
2. Humedecer ceniza con 1- 3 ml de agua y evaporar en un baño de agua o hot plate.
3. Colocar de nuevo el crisol en horno a no más de 200 °C y aumentar la temperatura (50-100 °C/h) hasta 450 °C. Proceder con la calcinación a 450 °C durante 1-2 horas o más.
4. Se repiten los procedimientos hasta que el producto es completamente calcinado, la ceniza debe ser blanco a gris o ligeramente coloreada. El número de repeticiones necesarias varía dependiendo del tipo de producto.
5. Añadir 5 ml de HCl 6M al crisol y asegurar que toda la ceniza entra en contacto con el ácido. Evaporar el ácido en baño de agua o en hot plate.
6. Disolver el residuo en 10-30 ml de HNO₃ 0.1M, con una precisión de 0.1 ml, revolver con cuidado para que todo entre en contacto con el ácido. Cubrir con vidrio de reloj y dejar reposar durante 1- 2 horas.
7. Mezclar la solución con varilla de agitación, filtrar el contenido con un número de poro de 0.45 micras, transferir el contenido a una botella de plástico. Tratar los blancos de la misma manera como el producto.

2.3.2. Adaptación del método de la AOAC 999.11

Con el método propuesto por la AOAC 999.11 descrito en la sección 2.3.1, se realizaron pruebas experimentales con muestras de chocolate de mesa, hasta lograr una metodología de trabajo para el tratamiento de las muestras previo al análisis de determinación de cadmio, en el equipo de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito.

La metodología a seguir se estableció experimentalmente bajo las condiciones del Laboratorio del Centro de Investigaciones y Aplicaciones Nucleares (CIAN) de la Universidad de El Salvador para el tratamiento de las muestras de chocolate de mesa, en la Tabla 2.9 se describe la comparación del método propuesto por la AOAC 999.11 con el método establecido experimentalmente mediante la adaptación del método de la AOAC 999.11 para el tratamiento de las muestras de chocolate de mesa.

Tabla 2.9 Cuadro comparativo del método propuesto por la AOAC 999.11 y el método adaptado experimentalmente para el tratamiento de las muestras de chocolate de mesa.

Etapa	Método propuesto	Método adaptado
Pre-tratamiento	Homogenizar el producto si es necesario, utilizando equipo no contaminante.	Método del cuarteo, para una muestra compuesta
Secado	Pesar 10-20 g. Secar la muestra de ensayo, en un baño de agua, o una hot plate caliente a 100 °C	Pesar 50g de muestras. Secar en estufa a 70°C por 24 horas
Trituración	Utilizando un mortero y molino de mortero triturar las muestras, pasar por tamices de 1mm y 0.5 mm para la obtencion de particulas mas pequeñas.	Triturar las muestras con mortero, obviar el tamizado, ya que las muestras sin tamizar permite que la calcinación sea uniforme y se reduzca el tiempo de calcinación de la muestra. Pesar 30 gramos de muestra
Primera etapa de calcinación	Introducir la cápsula en el horno a la temperatura inicial no inmediatamente superior a los 100°C. Aumentar la temperatura a una velocidad máxima de 50 °C/ h hasta 450 °C. Dejar reposar por lo menos 8 horas o toda la noche.	Introducir 30g de la muestra en mufla programada en dos incrementos, el primero a una temperatura inicial de 100°C con un incremento de 0.5°C por minuto hasta 250°C por un periodo de 4 horas, y el segundo incremento de 1°C por minuto hasta alcanzar los 450°C periodo de 16 horas, enfriar por 12 horas
Humectación	Humedecer ceniza con 1-3 ml de agua y se evaporar en un baño de agua o hot plate.	Humedecer con 5 ml de agua destilada la muestra y colocar la muestra en hot plate a temperatura de 100°C por una hora.
Segunda etapa de calcinación	Colocar el crisol en horno a no más de 200°C y aumentar la temperatura (50-100°C/h) hasta 450 °C. Proceder con la calcinación a 450 ° C durante 1-2 horas o más.	Introducir la muestra en mufla programable, con temperatura inicial de 250°C y velocidad de cambio de temperatura de 1.5°C por minuto hasta alcanzar los 450°C, por un periodo de 16 horas.

(Continuación)

Tabla 2.9a Cuadro comparativo del método propuesto por la AOAC 999.11 y el método adaptado experimentalmente para el tratamiento de las muestras de chocolate de mesa.

Etapa	Método propuesto	Método adaptado
Humectación	Humedecer ceniza con 1-3 ml de agua y se evaporar en un baño de agua o hot plate.	Humedecer con 5 ml de agua destilada la muestra y colocar la muestra en hot plate a temperatura de 100°C por 1 hora.
Tercera etapa de calcinación	Se repite el proceso descrito en la segunda etapa de calcinación hasta que el producto es completamente calcinado, la ceniza debe ser blanco/gris o ligeramente coloreada. El número de repeticiones necesarias varía dependiendo del tipo de producto.	Colocar la muestra en mufla programable, con temperatura inicial de 250°C y velocidad de cambio de temperatura de 1.5°C por minuto hasta alcanzar los 450°C, por un periodo de 16 horas, dejar enfriar por un periodo de 12 horas
Digestión Etapa I	Añadir 5 ml de HCl 6M, a crisol y asegurar que toda la ceniza entra en contacto con el ácido. Evaporar el ácido en baño de agua o en hot plate.	Añadir 5 ml de HCL 6M, asegurarse que todo entre en contacto con el material, colocar la muestra en hot plate por 1 hora a 70°C (hasta evaporar).
Digestión Etapa II	Adicionar de 10-30 ml de HNO ₃ a 0.1 M, tapar y dejar reposar durante 1 a 2 horas.	Adicionar 15 ml de HNO ₃ , reposar por 2 horas
Filtración	Agitar y filtrar la solución con un numero de poro de 0.45µm, colocar la muestra en un recipiente plástico	Filtrar los 15 ml de la solución con filtro de jeringa de 0.45µm de diámetro de poro, realizar lavados del crisol con 30ml de HNO ₃ a 0.1 M y filtrar los residuos de lavado.

2.4. Análisis de muestras de chocolate de mesa

Posterior al proceso descrito en la sección 2.3.2 las muestras de chocolate de mesa en solución (resultado de los procesos de calcinación y digestión de las muestras) se sometieron al proceso de lectura del contenido de cadmio en el equipo de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito el cual posee un límite de detección para cadmio de 0.002 – 0.02 µg/L y una alta sensibilidad.

Para un Nivel máximo propuesto mayor o igual a 0.1 mg/kg, el límite de detección del método deberá ser de 0.0002-0.002 mg/kg FAO/OMS (2016). Comparando el límite de

detección del método seleccionado con el límite de detección establecido por la FAO/OMS, cumple el criterio expuesto por el Manual de procedimiento de la Comisión del Codex Alimentarius.

Por la razón expuesta anteriormente se seleccionó el método de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito para determinar el contenido de cadmio en chocolate de mesa.

2.5. Cálculos y evaluación de los resultados

Con los resultados obtenidos se calcula la concentración (C) del metal en la muestra de ensayo de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$C = \frac{(a-b) \times V}{m} \quad (\text{Ecuación 2.3})$$

Dónde:

C= Concentración de la muestra de ensayo (mg/kg)

a= Concentración en las soluciones de ensayo (mg/L)

b= Concentración promedio en las soluciones del blanco (mg/L)

V= Volumen de la solución de ensayo (ml)

m= Peso de la porción de ensayo (g)

Si la porción de prueba se ha diluido, entonces se tiene que tomar en cuenta el factor de dilución. Cuando se corren los duplicados, el promedio de los resultados se debe dar con 2 cifras significativas. Los resultados se informaran en mg/kg o µg/kg de cadmio.

2.6. Determinación del contenido de materia seca total de cacao

Para determinar el contenido de materia seca total de cacao en chocolate de mesa, se realizó una visita técnica a una de las empresas que producen chocolate de mesa del área metropolitana de San Salvador (Ver Anexo B), donde se recopiló la información necesaria del proceso de fabricación, con esta información se realizó un balance de masa en cada una de las etapas de producción, según la formulación de chocolate de mesa de la empresa que se visitó. Con el porcentaje de materia seca total de cacao en chocolate de mesa, se clasificó

según el contenido de cacao, para poder comparar con los límites de cadmio establecidos por la FAO/OMS, Unión Europea y MERCOSUR.

2.7. Análisis microbiológico de muestras

Las muestras para análisis microbiológicos se recolectaron según lo establecido en la sección 2.1.4, se analizaron en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, los análisis microbiológicos de las muestras de chocolate permitió conocer si existe contaminación de origen biológico en el producto y comparar los resultados según lo establecido en la Norma Oficial Mexicana (NOM-186-SSA1/SCFI-2013, 2013) para cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao.

CAPÍTULO III:
ETAPA EXPERIMENTAL

3. ETAPA EXPERIMENTAL

En este capítulo se describe la etapa experimental de la investigación; el capítulo se ha dividido en seis partes; en la primera se explica el procedimiento utilizado para la recolección de las muestras, en la segunda se describe el procedimiento del tratamiento de las muestras previo al proceso de digestión, en la tercera se describe el proceso de digestión de las muestras, en la cuarta la preparación del blanco, la quinta etapa describe la aplicación de la técnica analítica y en la última los valores obtenidos de las lecturas de las muestras. En la Figura 3.1 se presenta diagrama resumen de cada una de las partes de la etapa experimental.

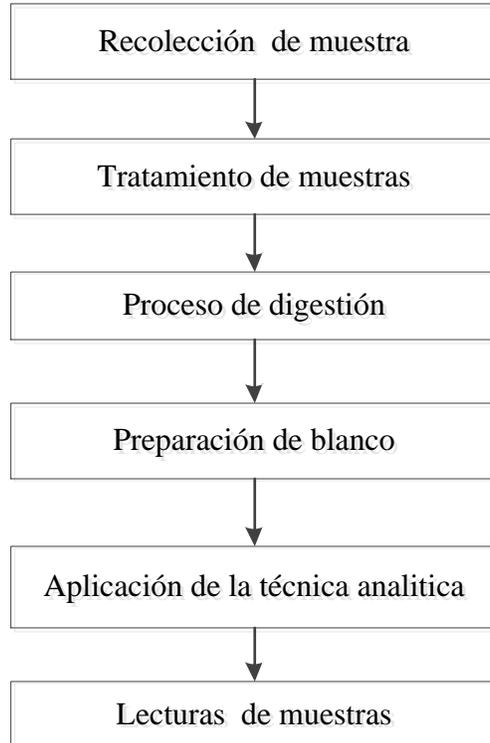


Figura 3.1 Diagrama de flujo de etapa experimental

3.1 Recolección de las muestras

Las muestras fueron recolectadas siguiendo el protocolo de muestreo (explicado en la sección 2.1.3). Las muestras fueron tomadas directamente de los puntos de venta.

El muestreo se realizó de la siguiente manera:

Las muestras se recolectaron semanalmente siguiendo la programación descrita en el Anexo C, se tomaron un total de 27 muestras de chocolate de mesa. Las muestras recolectadas fueron depositadas en bolsas ziploc rotuladas con su respectivo código de muestreo, transportadas en caja oscura, con su hoja de registro y trasladadas directamente al laboratorio.

3.2. Tratamiento de las muestras previo al proceso de digestión

En la Figura 3.2 se presenta el procedimiento que se siguió para el tratamiento de las muestras, previo al proceso de digestión basado en el método AOAC 999.11 (Association of Official Analytical Chemists, 2002) Indicado para la determinación de plomo, cadmio, cobre, hierro y zinc en comidas, medido en espectrometría de adsorción atómica posterior a la incineración de la muestra.

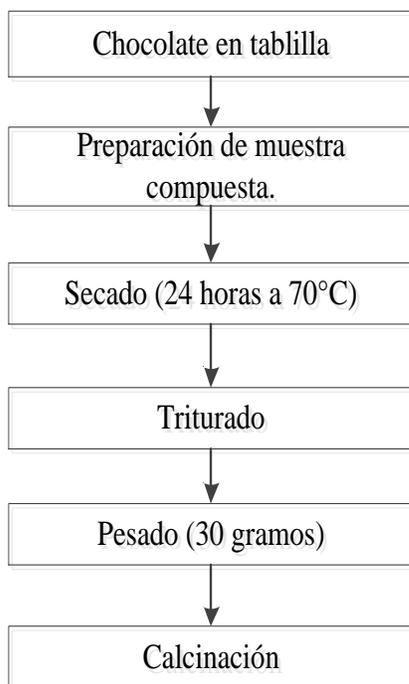


Figura 3.2 Tratamiento de las muestras previo al proceso de digestión

1. Muestra compuesta de chocolate de mesa

Antes de iniciar la preparación de las muestras compuestas se verifico que las 27 muestra de chocolate de mesa cumplieran con las siguientes condiciones: deben contar con olor y color característico a chocolate, sin manchas o mohos sobre la superficie.

Las 27 muestras de chocolate de mesa recolectadas en la etapa del muestreo, se clasificaron por marcas de chocolate de mesa que se comercializan en la zona metropolitana de San Salvador, obteniendo un total de 6 subgrupo de muestras, por cada subgrupo de muestra se preparó una muestra compuesta.

La preparación de la muestra compuesta para cada subgrupo de muestras de chocolate de mesa, se describe en los siguientes pasos:

1. Las muestras se trituraron y homogenizaron
2. Se colocó la muestra homogenizada en una superficie plana y se extendió en una capa gruesa y uniforme
3. Se dividió en 4 partes iguales, se descartan dos de los cuartos opuestos entre sí, eliminando el material contenido en ello.
4. Se mezclaron las dos partes restantes hasta homogenizar la muestra y se extendió nuevamente sobre la superficie.
5. Se repitió la operación de reducción y homogenización hasta conseguir un peso de 50 gramos.

Al finalizar el proceso anteriormente descrito se obtuvo un total de 6 muestras compuestas, las cuales se sometieron a su correspondiente proceso de calcinación y digestión, para el proceso de determinación de cadmio por medio de la técnica de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito.

En la Figura 3.3 se observa la preparación de la muestra compuesta.

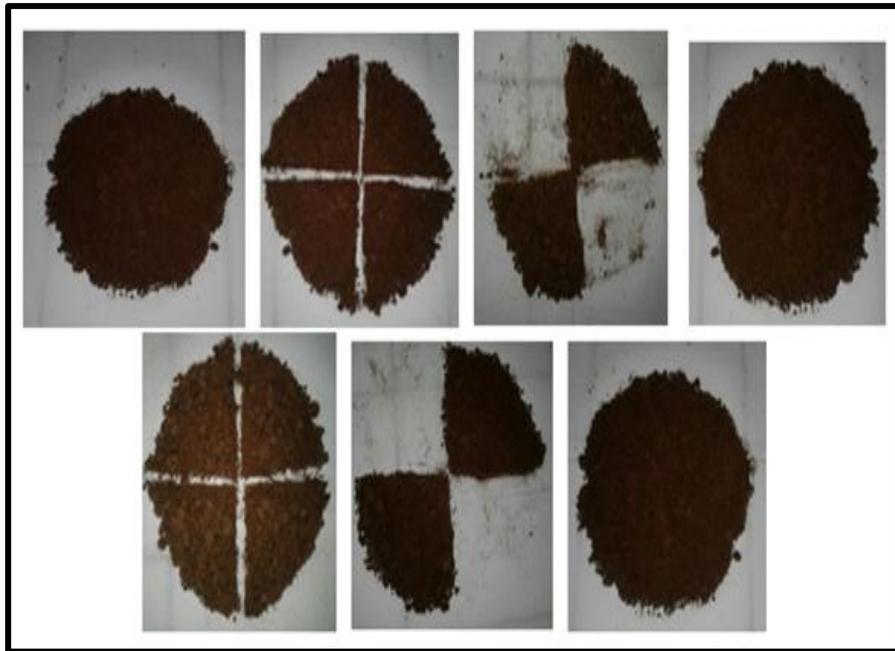


Figura 3.3 Método del cuarteo en muestras de chocolate de mesa

2. Secado

Las muestras fueron colocadas en una estufa a una temperatura de 70°C durante 24 horas, para facilitar el proceso de triturado. En la Figura 3.4 se presenta el orden en que fueron colocadas cada una de las muestras



Figura 3.4 Secado de muestras en estufa a 70° C por 24 horas.

3. Trituración

Transcurridas 24 horas de secado, se procedió a triturar cada una de las muestras, de manera manual en un mortero con pistilo de porcelana.

4. Pesado

De cada muestra secada y triturada se pesó 30 gramos, y se colocó en crisoles de porcelana con tapadera para iniciar el proceso de calcinación. En la Figura 3.5 se presenta las muestras trituradas y crisoles utilizados en el proceso de calcinación.



Figura 3.5 Pesado de muestras de chocolate de mesa

5. Calcinación

Se colocaron las muestras en la mufla, la cual se programó en tres etapas, la primera etapa se realizó a temperatura inicial de 100°C, con aumento de temperatura de 0.5°C por minuto hasta alcanzar 250°C por 4 horas, y luego a 450°C por 16 horas con aumento de temperatura de 1 °C por minuto, se enfriaron las muestras y se les agregó 5 ml de agua se colocó en un hot plate a temperatura de 100°C por una hora.

La segunda etapa se realizó a temperatura inicial de 250°C, con aumento de 1.5°C por minuto hasta alcanzar los 450°C por 16 horas, se dejó enfriar y se agregó 5 ml de agua destilada, se colocó en un hot plate a temperatura de 100°C por una hora.

La tercera etapa se realizó a las mismas condiciones de temperatura y tiempo de la segunda etapa, el proceso de calcinación terminó con la formación de cenizas, en la Figura 3.6 se muestra el resultado obtenido en esta etapa.



Figura 3.6 Ceniza obtenida del proceso de calcinación de las muestras de chocolate de mesa

3.3. Digestión de las muestras.

Las muestras calcinadas se sometieron al proceso de digestión con 5ml de ácido clorhídrico a 6 M y se calentó durante 1 hora hasta evaporar, posteriormente se agregó 15 ml de ácido nítrico al 0.1 M se dejó reposando por 2 horas, luego se filtró la solución con un filtro de jeringa, con poro de 0.45 μm y se realizó lavado de crisoles con 30 ml de ácido nítrico a 0.1 M. Se agregaron 45 ml de solución filtrada a los tubos de centrifuga y se almacenaron a temperatura de 25°C.

En la Figura 3.7 se presenta un diagrama que muestra de forma resumida el procedimiento de digestión de las muestras.



Figura 3.7 Procedimiento de digestión de las muestras

3.4. Preparación del blanco

La preparación del blanco consistió de manera similar al proceso anteriormente descrito de tratamiento de las muestras de chocolate de mesa, pero en este caso el procedimiento se efectuó sin muestra.

Para ello, se colocó el crisol sin muestra en la mufla programada a temperatura inicial de 200°C con incremento de 1.5 °C/minuto, hasta alcanzar los 450°C y permanecer a esa temperatura por 16 horas

Posterior al proceso de calcinación se añadieron 5 ml de ácido clorhídrico, el cual se colocó en hot plate a temperatura de 95°C durante 1 hora hasta evaporar.

Se agregaron 15 ml de ácido nítrico 0.1 M dejando reposar por 2 horas, se filtró la solución y se realizaron lavados con 30 ml de ácido nítrico y luego se filtró. Los 45 ml de solución filtrada se colocaron en tubo de centrifuga para ser almacenados a temperatura de 25°C. En la Figura 3.8 se presenta un diagrama que ilustra el proceso de preparación del blanco.

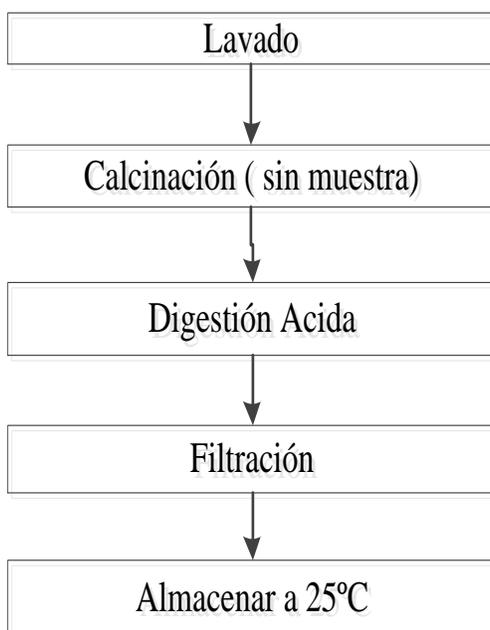


Figura 3.8 Proceso de preparación del blanco

3.5. Aplicación de la técnica de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito.

Para determinar el contenido de cadmio en cada una de las muestras de chocolate de mesa en forma de solución y del blanco, se sometieron a la técnica de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, para las lecturas de cadmio se utilizó una longitud de onda de 228.8 nm. En la Figura 3.9 se presenta el equipo de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito.



Figura 3.9 Equipo de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito

Para dar inicio con el uso del equipo de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito se debe de comprobar que se tiene una calibración inicial y periódica aceptable.

1. Se inicia la configuración operacional del instrumento y en el sistema de adquisición de datos. Permitir un periodo no menor de 30 minutos para el calentamiento de las lámparas de descarga sin electrodos.
2. Se debe de verificar la estabilidad del instrumento mediante el análisis de una solución estándar 20 veces más concentrada que el límite de detección del

instrumento (LDI) para analito, leída un mínimo de cinco veces y calculado la desviación estándar resultante, la cual debe de ser menor al 5%.

3. El instrumento debe de calibrarse para el analito a determinar usando un blanco de calibración y los estándares de calibración preparados a 3 o 4 niveles de concentración dentro del intervalo dinámico de concentración del analito.
4. Ajustar el instrumento a 0 con el blanco de calibración. Introducir los estándares de calibración del analito de menor a mayor concentración y registrar al menos tres réplicas de la absorbancia de cada uno.
5. Elaborar una curva de calibración graficando área de pico o altura máxima contra concentración del analito

CAPÍTULO IV
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE
RESULTADOS

4. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Este capítulo se divide en tres secciones, que detallan de manera precisa los resultados obtenidos en el análisis de muestras de chocolate de mesa; la primera sección de este capítulo, comprende los resultados obtenidos de la determinación de cadmio de las muestras de chocolate de mesa.

La segunda sección, se presenta la comparación gráfica de los resultados del contenido de cadmio en la muestra y los límites propuestos por las normativas, el tercer apartado trata sobre los resultados de los análisis microbiológicos realizados, a cada una de las muestras para tener un indicativo de las buenas prácticas de manufactura, los resultados se comparan con la norma mexicana para productos de chocolate y derivados de chocolate.

4.1. Resultados del contenido de cadmio en muestras de chocolate de mesa

Los resultados de las lecturas de determinación del contenido de cadmio de cada una de las muestras de chocolate de mesa se presentan en la Tabla 4.1. (Ver Anexo D)

Tabla 4.1 Resultados de análisis de determinación de cadmio en chocolate de mesa

Código	Resultados
M1	0.009 mg/L
M2	0.017 mg/L
M3	0.007 mg/L
M4	0.008 mg/L
M5	0.012 mg/L
M6	0.015 mg/L
Blanco	0.005 mg/L

4.2. Concentración de cadmio en muestras de chocolate a partir de los resultados

Para poder comparar los resultados de los análisis de la determinación del contenido de cadmio en chocolate de mesa, con las especificaciones reportadas por la FAO/OMS, Unión Europea, y Mercosur, es necesario convertir los dato a unidades de mg/kg, utilizando la

Ecuación 2.3, la cual es reportada por el método de la AOAC 999.11, para la determinación de la concentración de cadmio en alimentos.

$$C = \frac{(a-b) \times V}{m}$$

Sustituyendo en la Ecuación 2.3 para la muestra M1 tenemos:

$$C = \frac{\left(\frac{0.009-0.005}{L}\right)(45\text{ml})\left(\frac{1\text{ L}}{1000\text{ ml}}\right)}{(30.0013\text{ g})\left(\frac{1\text{ Kg}}{1000\text{ g}}\right)}$$

$$C = 0.006\text{ mg/kg}$$

Utilizando la Ecuación 2.3 para cada uno de los datos de la Tabla 4.1, se obtiene los siguientes resultados en mg/kg de cadmio, presentados en la Tabla 4.2

Tabla 4.2 Cadmio en chocolate de mesa en unidades de mg/kg

Código	Concentración (a)	Volumen (V)	Peso (m)	Resultado (C)
M1	0.009 mg/L	45	30.001	0.006 mg/kg
M2	0.017 mg/L	45	30.004	0.018 mg/kg
M3	0.007 mg/L	45	30.001	0.003 mg/kg
M4	0.008 mg/L	45	30.000	0.004 mg/kg
M5	0.012 mg/L	45	30.001	0.010 mg/kg
M6	0.015 mg/L	45	30.001	0.015 mg/kg

Para verificar si cada uno de los datos encontrados de la concentración de cadmio en muestras de chocolate de mesa son estadísticamente comparables se realizó una prueba Q de Dixon donde se determina si existen datos atípicos en los resultados obtenidos (Ver Anexo E).

Al realizar la prueba Q de Dixon para el valor de la muestra M2 de 0.018 mg/kg se obtiene que para una serie de datos n=6 y un riesgo del 5%, el valor crítico es 0.5624, el índice de Dixon encontrado para el dato de M2 es de 0.20, el índice de Dixon no excede este valor crítico, indicando que el valor 0.018 no es un valor atípico.

Por lo tanto no se puede excluir el dato y se procede con el análisis y discusión de resultados en base al grupo de datos obtenidos.

4.3. Comparación de los resultados con los niveles máximos de cadmio en chocolate

Los resultados obtenidos de los análisis, se comparan con los niveles máximos de cadmio en chocolate según las especificaciones de la FAO/OMS, Unión Europea, y MERCOSUR, ya que en El Salvador no existe una normativa que regule los niveles máximos de cadmio en chocolate.

En el Anexo F, se determinó el contenido de materia seca total de cacao, el cual es de 17.24% para una de las muestras de chocolate de mesa, tomando este valor como referencia, el chocolate de mesa se clasifica en la sección de chocolate con un contenido de materia seca total menor al 50%, las especificaciones de los niveles máximos de cadmio para esta categoría de chocolate se presentan en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3 Límites máximos de cadmio para chocolate de mesa

Reglamento	Características	Nivel máximo de cadmio
PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS (CX/CF 15/9/6)	Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao <50%	0.60 mg/kg
REGLAMENTO No 1881/2006 DE LA COMISIÓN DE LA UNION EUROPEA (UE)	Chocolate con un contenido de materia seca total de cacao < 50 %	0.30 mg/kg
REGLAMENTO TÉCNICO MERCOSUR SOBRE LÍMITES MÁXIMOS DE CONTAMINANTES INORGÁNICOS EN ALIMENTOS (MERCOSUR/GMC/RES. N°12/11)	Chocolates y productos de cacao < 40%	0.20 mg/kg

4.3.1. Representación gráfica de resultados

Para una mejor representación de los resultados obtenidos del contenido de cadmio en las muestras analizadas de chocolate de mesa, se realizó una representación gráfica y poder visualizar cada uno de los niveles de cadmio encontrados en las muestras.

a) Comparación y análisis de resultados de concentración de cadmio encontrada experimentalmente en muestras de chocolate de mesa comercializadas en la zona metropolitana de San Salvador.

Los resultados de los análisis de cadmio en muestras de chocolate de mesa que se presentan en la Tabla 4.2 se representan de manera gráfica en la Figura 4.1

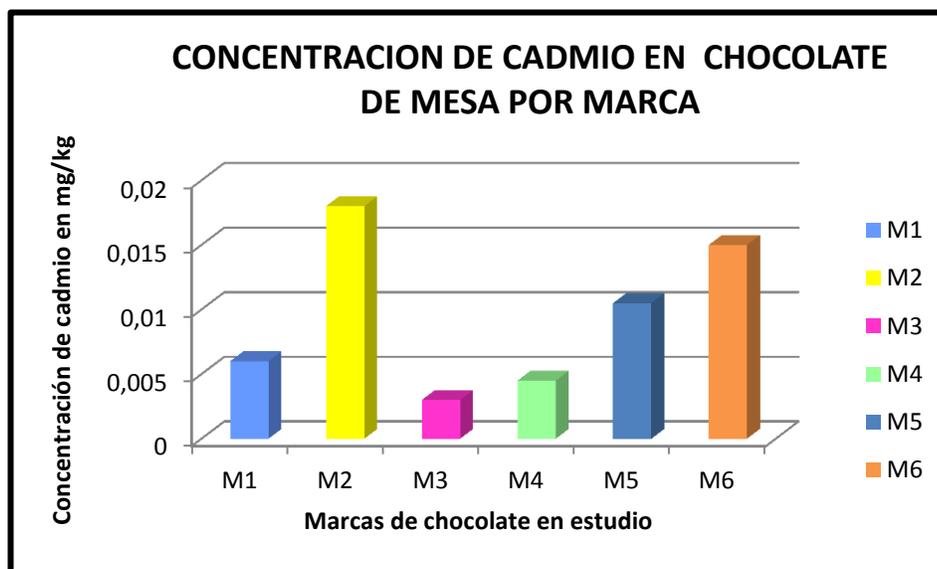


Figura 4.1 Concentración de cadmio en chocolate de mesa por marca

Análisis

En la Figura 4.1 las gráficas de barras describen la concentración de cadmio en mg/kg, de los análisis de las marcas de chocolate de mesa comercializadas en la zona metropolitana de San Salvador. Al comparar los resultados se observa que, la muestra M2 que posee registro sanitario contiene la mayor concentración de cadmio con un valor de 0.018 mg/kg, seguido por la muestra M6 que no posee registro sanitario con un valor de 0.015 mg/kg de cadmio;

la muestra que presento un menor valor referente a la concentración de cadmio es la M3 con un resultado de 0.003 mg/kg de cadmio.

Teniendo en cuenta que los resultados obtenidos se encuentran en el rango de 0.003 mg/kg a 0.018 mg/kg de cadmio, relacionando estos valores al bajo contenido de solidos de cacao en las muestras analizadas para este caso se calculó para una marca de chocolate de mesa un total del 17.24% de solidos de cacao, por lo tanto los tipos de chocolate que poseen mayor porcentaje de solidos de cacao como el chocolate negro con el 70 a 80%, pueden presentar mayor contenido de cadmio, y es necesario realizar estudios que permitan conocer estas concentraciones en este tipo de alimento, ya que al poseer niveles altos de cadmio son perjudiciales a la salud.

Como se puede observar los resultados hacen referencia que la concentración de cadmio encontrada, depende de la procedencia del cacao utilizado como materia prima para la elaboración de chocolate de mesa; teniendo en cuenta que el cacao que se produce en El Salvador cubre aproximadamente el 20% del consumo interno de 1000 Tm, por lo que El Salvador se ve obligado a importar de Guatemala, Nicaragua y Honduras. Por lo tanto los niveles de cadmio varían de acuerdo a la procedencia del cacao, en este caso la muestra M2 presento un valor mayor de concentración de cadmio de 0.018 mg/kg en comparación con los demás resultados, la procedencia del cacao para la elaboración de chocolate de mesa de la muestra M2 procede de Honduras según la información brindada en la visita técnica realizada a la empresa donde se fabrica el chocolate de mesa M2; esto hace necesario conocer la procedencia de la materia prima para la elaboración de chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador y no atribuir los resultados del contenido de cadmio a cacao cultivado en El Salvador.

b) Comparación gráfica de los resultados de muestras de chocolate de mesa, con especificaciones de Unión Europea, FAO/OMS y Mercosur.

Los resultados obtenidos del contenido de cadmio de las muestras de chocolate de mesa analizadas, son comparados con las especificaciones de las normativas según la

clasificación de chocolate de mesa. En la Tabla 4.4 se describe la comparación de resultados de cadmio en chocolate de mesa con normativas para un porcentaje de sólidos de cacao < 50 %

Tabla 4.4 Comparación de resultados de cadmio en chocolate de mesa con normativas

Código	Especificaciones UE*	Especificaciones FAO/OMS*	Especificaciones MERCOSUR*	Resultado mg/kg
M1	0.30 mg/kg	0.60 mg/kg	0.20 mg/kg	0.006
M2	0.30 mg/kg	0.60 mg/kg	0.20 mg/kg	0.018
M3	0.30 mg/kg	0.60 mg/kg	0.20 mg/kg	0.003
M4	0.30 mg/kg	0.60 mg/kg	0.20 mg/kg	0.004
M5	0.30 mg/kg	0.60 mg/kg	0.20 mg/kg	0.0105
M6	0.30 mg/kg	0.60 mg/kg	0.20 mg/kg	0.0150

La comparación gráfica de los resultados con las especificaciones de los niveles máximos propuestos por las normativas se ilustra en la Figura 4.2.

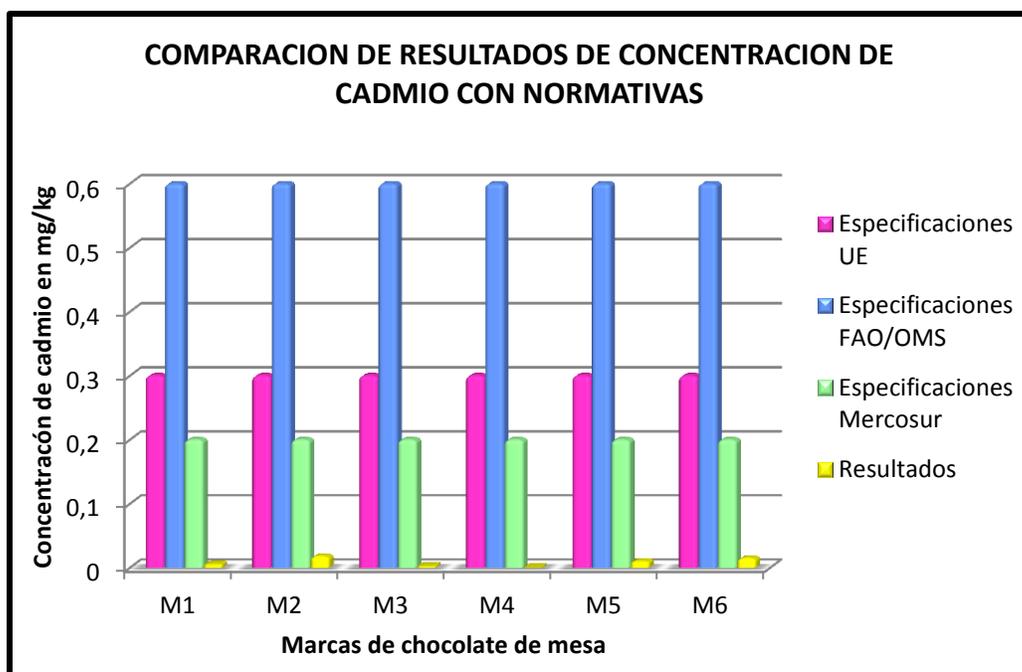


Figura 4.2 Comparación de análisis de resultados de muestras de chocolate con especificaciones de Unión Europea, FAO/OMS y Mercosur.

Análisis: Los resultados obtenidos de las muestras analizadas, son comparados de forma gráfica con las especificaciones de las normativas FAO/OMS, Unión Europea y Mercosur descritos en la Tabla 4.3. Como se ilustra en la Figura 4.2 las concentraciones de cadmio de las muestras de chocolate de mesa son inferiores a los niveles máximos permitidos por las normativas de la FAO/OMS (0.6 mg de cadmio/kg), Unión Europea (0.3 mg de cadmio/kg) y Mercosur (0.2 mg de cadmio/kg); determinando de esta manera que el contenido de cadmio en las muestras de chocolate de mesa analizadas con un valor aproximado de solidos de cacao del 17.24%, cumplen con las especificaciones de la normativas descritas para chocolate con un contenido < 50 % de solidos de cacao. El contenido de cadmio encontrado podría estar relacionado con las variaciones de solidos de cacao en el chocolate de mesa, en muestras donde el contenido de solidos de cacao sea mayor a 17% estas podría concentrar mayor contenido de cadmio en chocolate.

Los niveles de cadmio encontrados en el chocolate de mesa comercializado en la zona metropolitana de San Salvador hacen referencia a que, se debe ampliar el estudio de determinación de cadmio en chocolates con un mayor contenido de solidos de cacao del 17.24% y menores al 50% que son consumidos en su mayoría por niños, y poder determinar si estos productos presentan niveles de cadmio mayores a los propuestos por las normativas que se describen en la Tabla 4.3 y que podrían generar riesgos a la salud del consumidor.

Es necesario mencionar que no existe una categorización estipulada de los productos derivados del cacao para poder comparar el contenido de cadmio de las muestras de chocolate de mesa, según su contenido de solidos de cacao que es de 17.24% aproximadamente y no contiene ingredientes adicionales como leche, según los niveles máximos de cadmio propuestos para productos derivados del cacao, el chocolate de mesa se clasifica en los niveles máximos para chocolate con un contenido < 50% de solidos de cacao, y poder tener una comparación precisa de los resultados.

4.4. Análisis microbiológico de muestras de chocolate de mesa

Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos (Ver Anexo G) de coliforme y *Salmonella* realizados a las muestra de chocolate de mesa, se especifican en la Tabla 4.5, para este análisis se sometieron 5 muestras de chocolate de mesa que se comercializan en la zona metropolitana de San Salvador y que cuenta con su correspondiente registro sanitario, también se tomaron 4 muestras de chocolate de mesa que representan la producción artesanal, y que no poseen su correspondiente registro sanitario y se comercializan en mercados municipales del área metropolitana de San Salvador.

Tabla 4.5 Resultados microbiológicos realizados a muestras de chocolates de mesa

Muestra	Coliformes UFC/g	<i>Salmonella spp</i>
Muestras Con Registro Sanitario		
M1	Menor de 10 UFC/g	Ausencia
M2	Menor de 10 UFC/g	Presencia
M3	Menor de 10 UFC/g	Presencia
M4	Menor de 10 UFC/g	Presencia
M5	Menor de 10 UFC/g	Ausencia
Artesanal (Sin Registro Sanitario)		
M6.1	Menor de 10 UFC/g	Presencia
M6.2	Menor de 10 UFC/g	Presencia
M6.3	Menor de 10 UFC/g	Ausencia
M6.4	Menor de 10 UFC/g	Ausencia

Los resultados obtenidos se comparan con las especificaciones de la Normativa Oficial Mexicana para cacao tostado, chocolate sus derivados y producto similares, derivados del cacao (NOM-186-SSA1/SCFI-2013), ya que El Salvador no posee ninguna normativa referente a productos derivados del cacao. La Tabla 4.6 presenta las especificaciones microbiológicas para chocolate.

Tabla 4.6 Especificaciones microbiológicas para cacao tostado, chocolate sus derivados y productos similares y derivados del cacao

Reglamento	Microorganismos	Límite Microbiológico
NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-186-SSA1/SCFI-2013, CACAO, CHOCOLATE Y PRODUCTOS SIMILARES, Y DERIVADOS DEL CACAO.	Coliformes totales UFC/g	10 UFC/g
	<i>Salmonella spp</i> en 25g	Ausencia

a) Comparación de resultados de análisis microbiológico de Coliformes Totales con NOM-186-SSA1/SCFI-2013

Los análisis microbiológicos de coliformes totales se comparan con las especificaciones establecidas en la Tabla 4.6, los resultados de la comparación se presentan en la Tabla 4.7

Tabla 4.7 Comparación de resultados de análisis microbiológicos de Coliformes totales en muestras de chocolate de mesa

	Resultados	Especificaciones NOM
Muestra	Coliformes Totales UFC/g	Coliformes Totales 10 UFC/g
Muestras Con Registro Sanitario		
M1	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
M2	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
M3	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
M4	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
M5	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
Artesanal (Sin Registro Sanitario)		
M6.1	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
M6.2	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
M6.3	Menor de 10 UFC/g	Si cumple
M6.4	Menor de 10 UFC/g	Si cumple

Análisis: Los resultados microbiológicos presentados en la Tabla 4.7, establecen que las muestras de chocolate de mesa presentan menos de 10 UFC/g cumpliendo con los límites para coliformes totales establecidos en la norma (NOM-186-SSA1/SCFI-2013), para cacao tostado, chocolate sus derivados, y productos similares y derivados del cacao. La cantidad

reportada menor a 10 UFC/g, podría deberse a una contaminación por faltas de condiciones higiénicas durante el proceso de elaboración de chocolate de mesa. Así, la presencia de coliformes totales no indica, necesariamente, contaminación fecal y que en la etapa del proceso de tostado que alcanza temperaturas superiores a 100°C se destruye en su totalidad las coliformes totales.

b) Comparación de resultados de análisis microbiológico de *Salmonella spp* con NOM-186-SSA1/SCFI-2013

La comparación de los resultados de los análisis microbiológicos de *Salmonella spp*, con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM-186-SSA1/SCFI-2013) para cacao tostado, chocolate sus derivados, y productos similares y derivados del cacao se presentan en la Tabla 4.8

Tabla 4.8 Comparación de resultados de análisis microbiológicos de *Salmonella* en muestras de chocolate

	Resultados	Especificaciones NOM
Muestra	<i>Salmonella spp</i> en 25g	<i>Salmonella spp</i> en 25g Ausencia
Muestras Con Registro Sanitario		
M1	Ausencia	Si cumple
M2	Presencia	No cumple
M3	Presencia	No cumple
M4	Presencia	No cumple
M5	Ausencia	Si cumple
Artesanal (Sin Registro Sanitario)		
M6.1	Presencia	No cumple
M6.2	Presencia	No cumple
M6.3	Ausencia	Si cumple
M6.4	Ausencia	Si cumple

c) Resultado de Análisis microbiológico de *Salmonella* de muestras con registro Sanitario

La Figura 4.3 ilustra en un gráfico circular los resultados de los análisis microbiológicos de presencia o ausencia de *Salmonella*, para las muestras analizadas que cuentan con su respectivo registro sanitario.

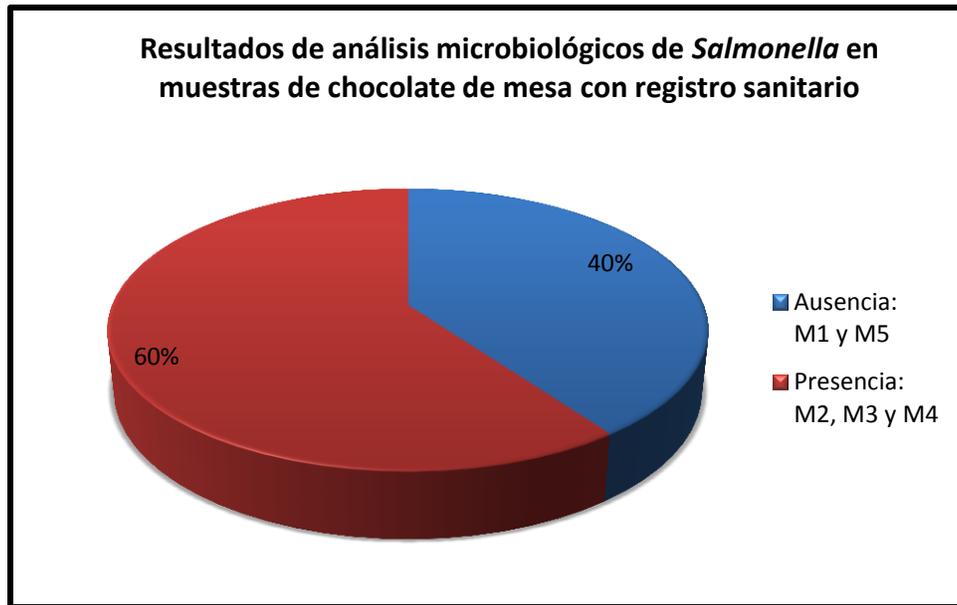


Figura 4.3 Resultados de análisis microbiológicos de presencia o ausencia de *Salmonella* en muestras de chocolate de mesa con registro sanitario

Análisis: La Figura 4.3 presenta los resultados de los análisis microbiológicos realizados para determinar de *Salmonella spp* en muestras de chocolate de mesa con registro sanitario, de las cuales el 40% de las muestras codificadas como M1 y M5 cumplen con las especificaciones de la normativa mexicana, reportando ausencia *Salmonella spp* en 25g; el 60% de las muestras codificadas como M2, M3 y M4 reportan presencia de *Salmonella spp*, incumpliendo con el límite propuesto por la normativa.

La presencia de *Salmonella spp* en algunas de las muestras, podría deberse a una contaminación de origen fecal de personas portadoras (3% de las personas que han sobrevivido a la fiebre tifoidea se vuelven portadores permanentemente) la etapa del tostado que se efectúa a temperaturas de 100°C a 150°C, puede ser considerada como un punto crítico de control donde se podría destruir la *Salmonella spp*. Por ello la contaminación con *Salmonella spp* podría estar asociado a deficiencia en condiciones higiénicas e incorrecto lavado de manos en las etapas de moldeado y mezclado de materia.

Debido a la naturaleza del producto que posee una baja actividad de agua, se limita el desarrollo de la *Salmonella spp* pero no su supervivencia, además la presencia de manteca de cacao en el chocolate de mesa contribuye a proteger la viabilidad de esta bacteria patógena y permite su acción toxinfectiva en personas inmunocomprometidas. Por esta razón es necesario mejorar las buenas prácticas de manufacturas en las etapas del proceso posterior al tostado del cacao, así como realizar cada 6 meses los correspondientes exámenes de heces en manipuladores y verificar, la posibilidad de ser portador permanente de *Salmonella spp*.

d) Resultado de Análisis microbiológico de *Salmonella spp* de muestras sin registro Sanitario

En la Figura 4.4 se presentan los Resultado de análisis microbiológico de presencia o ausencia de *Salmonella spp* en muestras de chocolate de mesa sin registro sanitario, para las muestras de chocolate de mesa que no poseen registro sanitario y se comercializan en la zona metropolitana de San Salvador.

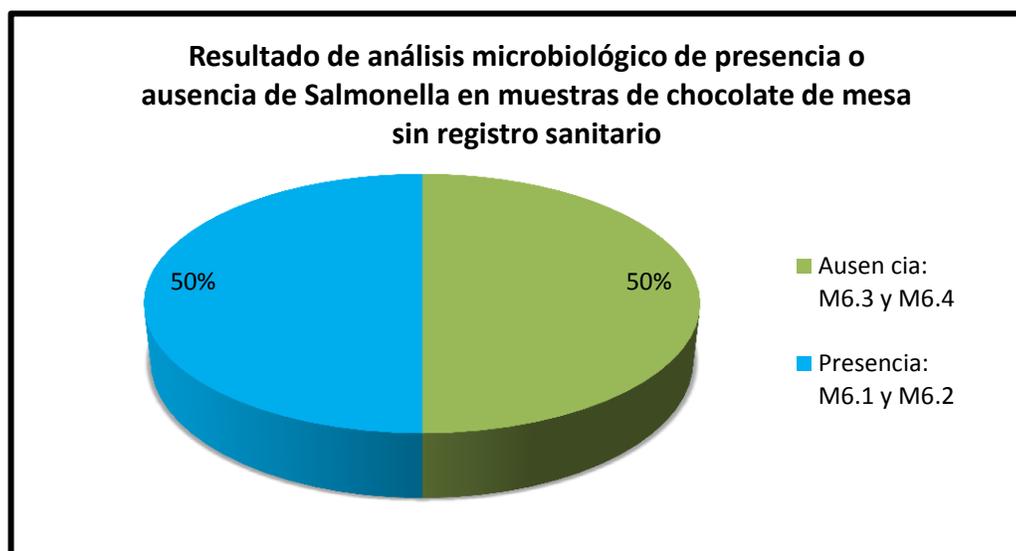


Figura 4.4 Resultado de análisis microbiológico de presencia o ausencia de *Salmonella* en muestras de chocolate de mesa sin registro sanitario

Análisis: La Figura 4.4 presenta los resultados de los análisis microbiológicos realizados para determinar *Salmonella spp* en muestras de chocolate de mesa sin registro sanitario, al comparar con los límites establecidos con la norma mexicana, el 50% de las muestras cumplen con las especificaciones de la normativa reportando ausencia de *Salmonella spp* en 25 g; las muestras de chocolate de mesa codificadas con M6.3 y M6.4 reportan la presencia de *Salmonella spp*, no cumpliendo con las especificaciones de la norma.

Los resultados obtenidos de las marcas de chocolate de mesa que no poseen registro sanitario y dieron como positivo la presencia de *Salmonella spp*, nos indica que posterior al proceso del tostado del cacao donde es eliminada la *Salmonella spp*, existe una posible contaminación con *Salmonella spp* por manipuladores del chocolate que sean portadores permanentes de *Salmonella spp*, y que no hayan realizado un correcto lavado de manos, así también se desconoce las instalaciones donde se elabora el chocolate de mesa sin registro sanitario, este tipo de producto se elaboran en instalaciones no diseñadas para garantizar la inocuidad del producto, un ejemplo claro podría ser, la contaminación del chocolate de mesa en las etapas del moldeo y secado, porque este proceso se efectúa al aire libre y debido a la presencia de aves de corral que son portadores de *Salmonella spp*, que comúnmente se mantiene en los hogares salvadoreños, estos pueden ser causa de contaminación del chocolate de mesa.

El chocolate de mesa posee una baja actividad de agua, esto limita el desarrollo de la *Salmonella* pero no su supervivencia. Para evitar contaminación con *Salmonella spp* del chocolate de mesa producido en hogares salvadoreños, se recomienda realizar los procesos de elaboración en lugares cerrados donde se impida el ingreso de aves de corral o palomas, así también realizar los exámenes correspondientes a los manipuladores y verificar si son portadores de *Salmonella spp*. Es necesario realizar un eficiente lavado de manos, que garantice la eliminación de la *Salmonella* y evitar la contaminación del chocolate de mesa.

Será necesario evaluar las condiciones de los productores artesanales de chocolate de mesa ya que no se cuenta con información sobre las instalaciones donde se elabora el producto ni se conoce los lugares de procedencia de la materia prima.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. De los resultados obtenidos de cadmio en la matriz analizada de chocolate de mesa y tomando en cuenta la investigación bibliográfica realizada, según FHIA (2011) considera que el factor que podría contribuir a la concentración de cadmio encontrada, es el pH del suelo, ya que a pH ácidos las plantas de cacao absorben con facilidad el cadmio del suelo.
2. El muestreo probabilístico aleatorio simple permitió diseñar y seleccionar un tamaño de muestra representativa de las marcas comercializadas en la zona Metropolitana de San Salvador, ya que todos los establecimientos donde se comercializa cada una de las marcas de chocolate de mesa tienen la misma probabilidad de formar parte de la muestra; como resultado se obtuvo un total de 27 muestras, las cuales representan 6 marcas de chocolate de mesa que se comercializa en la zona metropolitana de San Salvador.
3. Los resultados de los análisis de la determinación de cadmio en chocolate de mesa de marcas nacionales, por medio de la técnica de espectrometría de absorción atómica con horno de grafito, reporto un rango de 0.003 a 0.018 mg/kg cadmio en las muestras analizadas, es posible que los valores de cadmio encontrados se podrían atribuir al mínimo contenido de sólidos de cacao en las muestras analizadas, por lo tanto los tipos de chocolate que poseen mayor porcentaje de sólidos de cacao, pueden presentar mayor contenido de cadmio, y es necesario realizar estudios que permitan conocer las concentraciones en este tipo de alimento, ya que al poseer niveles altos de cadmio son perjudiciales a la salud.
4. Al comparar los resultados con las especificaciones de las normativas utilizadas sobre los niveles máximos de cadmio en chocolate y productos derivados de cacao descritos en la Tabla 4.6, se verifico que el contenido de cadmio en las muestras de chocolate de mesa de la zona Metropolitana de San Salvador, son inferiores a los niveles máximos establecidos, determinando de esta manera que el contenido de

cadmio en las muestras de chocolate de mesa analizadas con un valor aproximado de sólidos de cacao del 17.24%, cumplen con las especificaciones de las normativas descritas para chocolate con un contenido <50 % de sólidos de cacao.

5. Los resultados de esta investigación, podrían ser utilizados por organizaciones competentes como el Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC), como información del contenido de cadmio en muestras de chocolate de mesa comercializado en El Salvador, y contribuir a establecer una posición de país frente a la propuesta de anteproyecto de niveles máximos para el cadmio en el chocolate y productos derivados del cacao, del comité Espejo del Codex sobre contaminantes de los Alimentos, que durante el periodo de tiempo que se realizó este trabajo se encuentra en proceso de estudio.
6. En base a los resultados obtenidos en la presente investigación, se podría proponer como límite máximo de cadmio en chocolate de mesa, el límite que establece el Reglamento Técnico Mercosur sobre Límites Máximos de Contaminantes Inorgánicos en Alimentos (MERCOSUR/GMC/RES. N°12/11), el cual es de 0.2 mg/kg de cadmio, considerando que los rangos de cadmio encontrados en las muestras de chocolate de mesa analizadas se encuentran por debajo de este y en base a la ingesta semanal tolerable de cadmio que propone OMS es de 7 – 25 µg/kg de peso corporal, el límite propuesto por MERCOSUR es el mínimo en comparación con las otras normativas previniendo así posibles efectos sobre la salud de los consumidores.
7. Debido a condiciones fisicoquímicas del chocolate de mesa como baja actividad de agua, alta porción de grasas y azúcares que dificultan el crecimiento de hongos y levaduras, el principal riesgo microbiológico detectado en la investigación es la presencia de *Salmonella spp*, ya que no es propia del cacao ni del medio que se cultiva, podría tratarse de origen fecal humano por manipuladores que sean portadores activos de *Salmonella spp*, introducida en algún momento del proceso,

según lo observado en la visita realizada a la planta procesadora de chocolate de mesa, en la etapa del tostado de los granos que se efectúa a temperaturas entre 100°C a 150°C la *Salmonella spp* es eliminada; Posteriormente, deberán tomarse todas las precauciones para minimizar el peligro de reintroducción y con el objetivo de mantener el riesgo al más bajo nivel posible, es preciso mantener unas buenas prácticas de manufactura en todas las etapas de elaboración.

RECOMENDACIONES

1. Dado que en El Salvador no hay información acerca del contenido de cadmio en chocolate de mesa, los resultados de esta investigación pueden ser utilizados como insumo para futuros proyectos de normas y reglamentos que regulen el contenido de cadmio en chocolate de mesa.
2. Replicar esta investigación, aumentando el tamaño del muestreo en diferentes puntos de El Salvador y en productos con un contenido mayor del 17% de sólidos de cacao, ya que existen productos con mayor contenido de sólidos de cacao que son elaborados para consumo inmediato, por ejemplo: cacao edulcorado en polvo para bebidas, confites de chocolates, bebidas de chocolate, etc, donde los mayores consumidores son niños y adultos mayores, siendo estos la población vulnerable referente a la adsorción del cadmio, causando daños a la salud por la acumulación del metal en el organismo, si este se encuentra en un nivel elevado en el alimento y en las condiciones que permitan la fácil absorción del elemento dentro del cuerpo.
3. Realizar estudios donde se evalué el contenido de cadmio y pH en suelos de cultivos de cacao en El Salvador, y establecer un mapeo referente al cadmio en los suelos donde se cultiva cacao y otros alimentos, ya que en El Salvador se está impulsando el desarrollo del cultivo del cacao, es necesario tomar en cuenta los tipos de suelos y los factores que pueden contribuir a la adsorción del cadmio por las plantas de cacao y producir cacao de buena calidad que no excedan los límites de cadmio.
4. Realizar una validación de la propuesta del método que se desarrolló experimentalmente en esta investigación; y de esta manera establecer una metodología para el tratamiento de muestras de chocolate de mesa que se someterán a análisis de espectrometría de absorción atómica, y que quede para uso interno de la Universidad de El Salvador.

5. Por parte de los productores de chocolate de mesa asegurarse de adquirir siempre la materia prima de suministradores homologados con quienes se pacte la ausencia de plaguicidas, que se conozcan las fuentes de procedencia, que sigan y exijan buenas prácticas de manipulación, que lleven un control de confirmación del mantenimiento de las condiciones contratadas, asegurándose con esto que cada lote de cacao que utilicen este libre de cadmio y otros metales pesados.
6. De acuerdo a lo observado en la visita técnica a empresa procesadora de chocolate de mesa y los resultados obtenidos de presencia de *Salmonella* en este producto, se recomienda realizar mayores estudios en las plantas de procesamiento donde se procesan tablillas de chocolate de mesa con la finalidad de determinar el origen de contaminación microbiológico de *Salmonella spp.* La información derivada de estos estudios permitirá entender con eficiencia los problemas higiénicos en estos sitios y, en lo sucesivo, prevenirlos; contribuyendo con ello a la disminución de brotes de enfermedades por consumo de chocolate de mesa crudo o mal cocido.
7. Dada la naturaleza química del producto y de acuerdo con lo observado en la visita realizada a la planta de procesamiento de chocolate de mesa, hay oportunidad de mejorar las condiciones de empaque ya que en la actualidad se utiliza papel fantasía, el cual no está diseñado para empacar alimentos, debido a que su uso comercial es para decoración, no se tienen controles de inocuidad en el proceso de elaboración de este papel, por lo tanto es necesario realizar estudios para establecer un empaque para el chocolate de mesa que aseguren la protección del producto contra la adicción de agentes externos que puedan alterar sus características químicas o físicas, y que puedan resistir las condiciones de manejo, transporte y mejorar la vida de anaquel del producto.

BIBLIOGRAFIA

AECOSAN. (2016). *Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria Nutrición. Cadmio*. Obtenido de:
http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/cadena_alimentaria/subdetalle/qui_metales_pesados.shtml.

Agell, O. (s.f.). *La seguridad alimentaria del chocolate*. Obtenido de:
http://www.ruta.org/CDOCDeployment/documentos/19_LA_SEGURIDAD_ALIMENTARIA_DEL_CHOCOLATE.pdf

ATSDR. (2008). *Agency for toxic Substances and Disease Registry, Toxicological profile for cadmium*. Obtenido de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>

AOAC (1999). AOAC Official Method 999.11 (1999). *Determination of Lead Cadmium, Copper, Iron and Zinc in Foods*. Obtenido de:
<http://img.21food.cn/img/biaozhun/20100108/177/11285282.pdf>

Barrueta, S. (2013). *Guía de Metodos de Deteccion y Analisis de cadmio en cacao*. DEVIDA-USAID PERU PDA, Lima, Peru.

Bonilla, G. (1997). *Estadística II, Metodos Practicos de Interferencia Estadística*. El Salvador : Univerisidad Jose Simeon Cañas (UCA).

Castañeda Monroy, V., Aranzazu Hernández, F., Hernández Lovato, L., Quintanilla Monjaras, G., y Morán Rodríguez, A. E. (2016). *Guía de conceptos básicos de genética en cacao, para su aplicación en la caracterización de germoplasma de cacao nativo de El Salvador*. San Salvador.

CATIE (2016). *Desarrollo de Agronegocios*.
Obtenido de <http://eco-negocios.com/index.php/eco-productos/cacao>.

Chávez, A. (2004). *Programa para el desarrollo de la Amazonia*. Ministerio de Agricultura. Peru.

Chica Cardona, B. A. (2003). *Determinacion de la vida de anaquel del chocolate de mesa sin azucar en una pelicula de polipropileno bioorientado*. Trabajo de grado, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

Facultad de Ciencias Quimicas. (2016). *Universidad Autonoma de Chihuahua, Lectura No. 9: Espectrometria de Absorcion Atomica*. Recuperado el 11 de Mayo de 2016, de <http://www.fcq.uach.mx/index.php/docencia/columna-2/material-de-estudio/category/15-analisis-instrumental?download=56:lectura9>.

FAO/OMS. (2014). *Organizacion de las Naciones Unidas para la Alimentacion y la agricultura. Promograma conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Novena Reunion, Anteproyecto de Niveles maximos para el cadmio en el chocolate y productos derivados de cacao*.

FAO/OMS. (2016). *Organizacion de las Naciones Unidas para la Alimentacion y la agricultura. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Decima Reunion, Anteproyecto de Niveles Maximos para el cadmio en el chocolate y productos derivados de cacao*.

FHIA (2011). FUNDACION HONDUREÑA DE INVESTIGACION AGRICOLA. *Programa de cacao y Agroforesteria Informe Técnico 2011*. La Lima Cortez Honduras.

FUNDESYRAM. (s.f.). *Fundacion para el Desarrollo Socioeconomico y Restauracion Ambiental, Historia del cacao*. Obtenido de: <http://www.fundesyram.info/biblioteca.php?id=3079>

Hardy, F. (1961). *Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Manual de cacao*. Turrialba, Costa Rica.

Lutheran World Relief. (2013). *Aprendiendo e innovando el diseño y establecimiento de cacao bajo sistemas agroforestales, Guia 2*. Obtenido de: <http://programs.lwr.org/atf/cf/%7B8ed291f8-702d-4e2c-9821-68d75e0105d2%7D/R-MT-guia2-PlantingCacao.pdf>

Marroquin Rodriguez, A. M. (2011). *Estudio Agromorfológico y fisicoquímico de ecotipos de cacao cultivados en los municipios de Usulután, California y Tecapán del Departamento de Usulután en El Salvador*. Trabajo de grado, Universidad Dr. Jose Matias Delgado, Antiguo Cuscatlan.

Martinez, G. R., y Palacios, C. (2010). *Determinacion de metales pesados cadmio y plomo en suelos y granos de cacao frescos y fermentados mediante espectrometria de absorcion atomica de llama*. Trabajo de grado, Bucaramanga.

Mite, F., Carrillo, M., y Durango, W. (17 de Noviembre de 2010). *XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo*. Obtenido de: <https://app.box.com/s/ypon3kded0ro48krfuji5sb8s7sh2mq8>

Nava Ruiz, C., y Mendez Armenta, M. (2011). *Efectos neurotoxicos de los metales pesados (cadmio, plomo, arsenico y talio)*, Vol. 16, No 3:140-147. Obtenido de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/arcneu/ane-2011/ane113f.pdf>

NOM-186-SSA1/SCFI-2013. (2013). *NORMA Oficial Mexicana, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba*. Mexico.

Quintero, J. (2009). *Chocolate artesanal*. Obtenido de: <http://elsalvadorfoto.blogspot.com/2009/01/chocolate-artesanal.html>

Raul Hernandez (2013). "*Determinación de contaminación por metales pesados en suelos de la zona rural del bajo Lempa por medio de Fluorescencia de Rayos X*". Trabajo de grado, Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador.

Thomas Murphy, Alex T. (2014), ASTM, INTERNATIONAL STANDARDS WORLDWIDE (2014). Manejo de valores atípicos. Tomado de https://www.astm.org/SNEWS/SPANISH/SPND08/datapoints_spnd08.html

TRADE MAP. (2015). Trade statistics for international business development. Obtenido de: http://www.trademap.org/Bilateral_TS.aspx

Unión Europea. (s.f.). Ficha 10, Cacao y chocolate. Obtenido de: <file:///C:/Users/Admin/Downloads/10.-Ficha-cacao-y-chocolate-corregida-1.pdf>

GLOSARIO DE TERMINOS

Antropogénicas: Hace referencia a las acciones humanas que influye en el medio ambiente, es decir, es el cambio suscitado en un entorno gracias a la intervención o el trabajo de manos humanas, esto diferente a las alteraciones provocada por la propia naturaleza.

Aves de corral: Se refiere a aves domesticada utilizada en la alimentación, ya sea en forma de carne o por sus huevos. La denominación incluye típicamente a miembros de los órdenes Galliformes (tales como los pollos y pavos) y Anseriformes (aves acuáticas como patos y gansos).

Conchado: Es un proceso de refinación de la pasta básica de chocolate por medio del cual se mejora y armoniza su sabor y se hace posible su fluidez.

Insuficiencia renal crónica: Pérdida progresiva, generalmente irreversible, de la tasa de filtración glomerular que se traduce en un conjunto de síntomas y signos denominado uremia y que en su estadio terminal ocasiona la muerte.

Lixiviar: Tratar una sustancia con el disolvente adecuado para obtener su parte soluble.

Necrosis: Muerte de las células y los tejidos de una zona determinada de un organismo vivo.

Nefrotoxicos: Es la toxicidad ejercida sobre los riñones.

Núcleo caudado: El núcleo caudado es una estructura del cerebro que forma parte de los ganglios basales. Constituye una masa de sustancia gris.

Picnosis: Condensación y degeneración celular en que el protoplasma se hace más denso y el tamaño de la célula disminuye.

Porcentaje de sólidos de cacao: Se refiere al porcentaje total de ingredientes por su peso en el producto procedentes del cacao en grano, incluidos el licor y la manteca de cacao.

Proteinuria: Presencia en la orina de proteínas en una cantidad superior a la normal.

Putamen: Es una estructura situada en el centro del cerebro que junto con el núcleo caudado forma el núcleo estriado.

ANEXOS



Anexo A. Selección aleatoria de los mercados y supermercados a visitar

Se realizó una investigación de campo, determinando el total de supermercados y mercados que comercializan chocolate de mesa en el área metropolitana de San Salvador, Se obtuvo un total de 31 supermercados y 7 mercados, Con los resultados obtenidos de supermercados y mercador de la zona metropolitana de San Salvador, se elaboró una lista en Excel, clasificando las sucursales por el tipo de marca de chocolate de mesa que distribuye, y con la opción de Microsoft Excel para números aleatorios (=ALEATORIO.ENTRE(1;29)), se obtuvo las sucursales a muestrear por marca de chocolate.

Las sucursales que se visitaron para la toma de muestras de chocolate de mesa para determinación de cadmio, son las que se encuentran seleccionadas con color, como lo indica la Figura A-1.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
1															
2						=ALEATORIO.ENTRE(1;28)									
3		Nº	M1		Nº	M2	Nº	M3	Nº	M4	Nº	M5	Nº	M6	
4		1	Bethoven		1	Bethoven		1	DDJ Heroes	1	DDJ Heroes	1	Mercado Central	1	Mercado San Miguelito
5		2	Escalon		2	Escalon		2	DDJ Terraza	2	DDJ Terraza	2		2	Mercado San Jacinto
6		3	Gigante		3	Gigante		3	DDJ Cima	3	DDJ Cima	3		3	Mercado Monserrat
7		4	Los Santos		4	Los Santos		4	DDJ Escalon Norte	4	DDJ Escalon Norte	4		4	Mercado San Antonio
8		5	San Benito		5	San Benito		5	DF Dario	5	DF Dario	5		5	Mercado La Tiendona
9		6	Masferrer		6	Masferrer		6	DF Centro	6	DF Centro	6		6	Mercado Tinetti
10		7	Santa Emilia		7	Santa Emilia		7	DF San Jacinto	7	DF San Jacinto	7		7	Mercado Central
11		8	Miralvalle		8	Miralvalle		8	Walmart	8	Walmart				
12		9	Miralvalle Motocross		9	Miralvalle Motocross									
13		10	San Luis		10	San Luis									
14		11	Trigueros		11	Metro Sur									
15		12	España		12	España									
16		13	Metrocentro 6ª		13	Metrocentro 6ª									
17		14	Centro Arce		14	Centro Arce									
18		15	Centro Antel		15	Centro Antel									
19		16	Centro		16	Centro									
20		17	San Miguelito		17	San Miguelito									
21		18	San miguelito Don Rua		18	San miguelito Don Rua									
22		19	Autopista Sur		19	Autopista Sur									
23		20	DDJ Escalon Norte		20	San Jacinto									
24		21	Metrocentro 8ª		21	Metrocentro 8ª									
25		22	Metro Sur		22	Trigueros									
26		23	Cima		23	Cima									
27		24	DDJ Escalon norte		24	DDJ Escalon norte									
28		25	DDJ Heroes		25	DDJ Heroes									

Figura A-1 Determinación aleatoria de supermercados y mercados a muestrear.

Para el muestreo de chocolate de mesas para análisis microbiológico, se realizó con el procedimiento descrito en la página anterior, obteniendo los siguientes resultados.

Las sucursales que se visitaron para la toma de muestras de chocolate de mesa para análisis microbiológico, son las que se encuentran seleccionadas con color, como lo indica la Figura A-2.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1															
2						=ALEATORIO.ENTRE(1,28)									
3		Nº	CHOCOLATE CRIOLLO		Nº	EL BUEN CHOCOLATE	Nº	CHOCOLATE SUPER	Nº	Peka Maya	Nº	El Negroito	Nº	Artesanal	
4		1	Centro de Produccion		1	Centro de produccion	1	DDJ Heroes	1	DDJ Heroes	1	Mercado Central	1	Mercado San Miguelito	
5		2	Bethoven		2	Bethoven	2	DDJ Terraza	2	DDJ Terraza			2	Mercado San Jacinto	
6		3	Escalon		3	Escalon	3	DDJ Cima	3	DDJ Cima			3	Mercado Monserrat	
7		4	Gigante		4	Gigante	4	DDJ Escalon Norte	4	DDJ Escalon Norte			4	Mercado San Antonio	
8		5	Los Santos		5	Los Santos	5	DF Dario	5	DF Dario			5	Mercado La Tiendona	
9		6	San Benito		6	San Benito	6	DF Centro	6	DF Centro			6	Mercado Tinetti	
10		7	Masferrer		7	Masferrer	7	DF San Jacinto	7	DF San Jacinto			7	Mercado Central	
11		8	Santa Emilia		8	Santa Emilia	8	Walmart	8	Walmart					
12		9	Miralvalle		9	Miralvalle									
13		10	Miralvalle Motocross		10	Miralvalle Motocross									
14		11	San Luis		11	San Luis									
15		12	Trigueros		12	Metro Sur									
16		13	España		13	España									
17		14	Metrocentro 6ª		14	Metrocentro 6ª									
18		15	Centro Arce		15	Centro Arce									
19		16	Centro Antel		16	Centro Antel									
20		17	Centro		17	Centro									
21		18	San Miguelito		18	San Miguelito									
22		19	San miguelito Don Rua		19	San miguelito Don Rua									
23		20	Autopista Sur		20	Autopista Sur									
24		21	DDJ Escalon Norte		21	San Jacinto									
25		22	Metrocentro 8ª		22	Metrocentro 8ª									
26		23	Metro Sur		23	Trigueros									
27		24	Cima		24	Cima									
28		25	DDJ Escalon norte		25	DDJ Escalon norte									

Figura A-2 Determinación aleatoria de supermercados y mercados para análisis microbiológico

**Anexo B. Visita técnica a empresa “G” productora de chocolate de mesa en
El Salvador**

En la empresa “G”, se realizó una visita técnica para conocer el proceso de elaboración de chocolate de mesa, y junto con el Ministerio de Salud, con el Programa Higiene de Los Alimentos, se realizó una visita de control aplicando la Ficha de Inspección de Buenas Prácticas de Manufactura para Fabrica de Alimentos Procesados, con código RTCA 67.01.33:06. El objetivo de la visita es conocer el proceso de elaboración a nivel semi-industrial, equipos utilizados y las Buenas prácticas de Manufactura que se aplican, en la Tabla D-1 se describe el proceso de elaboración de chocolate de mesa en la empresa “G”.

Tabla B -1 Procesos de fabricación de chocolate de mesa empresa "G"

Ilustración	Etapa del proceso	Equipo/Utensilios
 <p>Materia Extraña</p>	<p>1. Limpieza de Cacao Proceso manual donde se separa la materia extraña de las semillas de cacao; el cacao limpio se almacena en sacos.</p>	<p>– Sacos de nylon para almacenar cacao limpio.</p> <p><i>Materia extraña:</i> Pulpa seca de cacao, palos, piedras, clavos, plástico, etc</p>
 <p>Tostador rotatorio para secado del cacao</p>	<p>2. Tostado El proceso de tostado del cacao limpio se efectúa en un tostador rotatorio de gas propano, en el interior del equipo se coloca la semilla de cacao durante 25 min para eliminar la humedad.</p>	<p>– Tostador elaborado de manera artesanal, de lámina de acero inoxidable.</p>
 <p>Molino y subcionador de cascarilla.</p>	<p>3. Quebrado y Soplado. El proceso de quebrado se realiza en un molino con una adaptación de un succionador que permite retirar la cascarilla de la semilla de cacao, obteniendo la semilla quebrada y sin cascara.</p>	<p>– Molino de Nixtamal con piezas de hierro y lámina de acero inoxidable, adaptado para el quebrado del cacao y eliminación de cascarilla.</p> <p>– Sacos de papel para almacenar cacao quebrado.</p>

(Continuación)

Ilustracion	Etapa del proceso	Equipo/Utensilios
 <p>Mezclador</p>	<p>4. Mezclado En el mezclador se coloca 23 lb cacao quebradas, 110 azúcar, 2 onz de canela, 2.7 onz vainilla, 2 onz de Solbato de Sodio, cada uno de las materias primas se coloca en la mezcladora, para la obtención de una mezcla uniforme.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Mezclador de láminas de acero inoxidable
 <p>Molino</p>	<p>5. Molienda La molienda de la mezcla se efectúa en un molino agregando 5lb de agua potable (Filtrada) a la mezcla para chocolate.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Molino de material de hierro y lámina de acero inoxidable. - Recipientes plásticos para almacenar la pasta de chocolate.
 <p>Amasado y moldeado</p>	<p>6. Amasado y formado. El amasar la pasta para realizar el formado de la tablilla donde se ocupa moldes definidos de diferente tamaño y pesos. Tomar una porción pequeña, formando una pequeña bolita y luego de coloca en los molde para que esta tome la forma redonda y aplanada, colocar el chocolate formado en bandejas de acero.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Mesa de superficie lisa - Plástico para cubrir mesa - Guantes - Moldes de plástico para formado de tablilla - Bandejas de acero
 <p>Clavijero y bandejas de metal</p>	<p>7. Secado y Reposo Cada una de las tabletas de chocolate formada se coloca en bandejas metálicas, cada bandeja de coloca en clavijeros para que se sequen a temperatura ambiente para luego ser empacadas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Clavijeros de metal - Bandejas de metal
 <p>Producto Empacado</p>	<p>8. Empacado El producto es empacado en papel fantasía donde se le coloca su respectiva viñeta, su fecha de elaboración y vencimiento. El producto elaborado se coloca en jvas plásticas para su posterior distribución.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Papel Fantasía - Viñeta - Sello para fecha - Almohadilla con tinta <p><i>Fecha de Vencimiento:</i> 4 meses a partir de su elaboración.</p>

En la Figura B-1 se presenta el diagrama de flujo del proceso de elaboración de chocolate de mesa en la empresa “G”

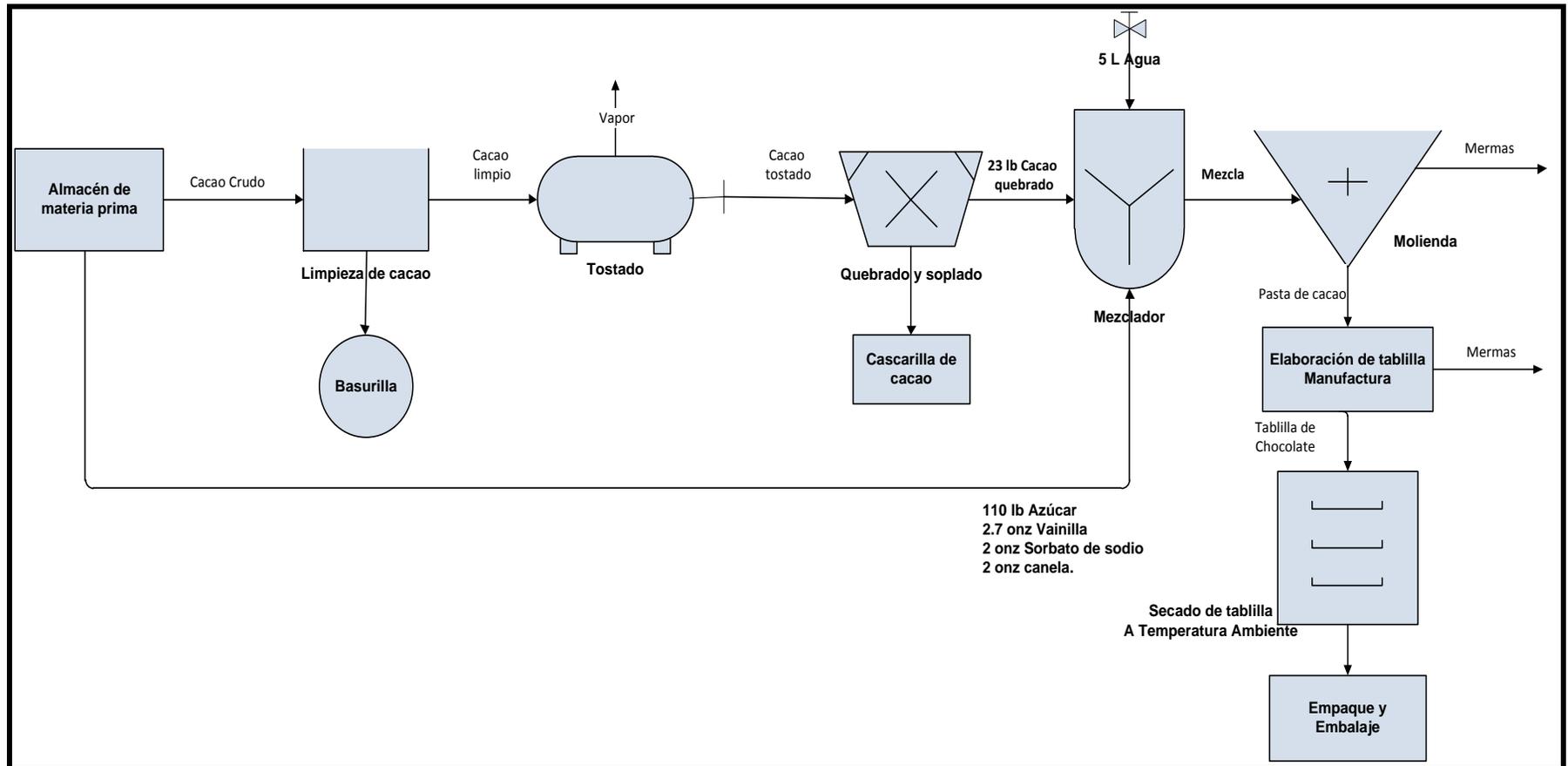


Figura B -1 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de chocolate de mesa en empresa "G"

Para la recopilación de la información se realizó una entrevista a la propietaria de la empresa “G” la cual se presenta a continuación.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA
INGENIERIA DE ALIMENTOS



TRABAJO DE GRADO: “DETERMINACIÓN DE CADMIO EN CHOCOLATE DE MESA COMERCIALIZADO EN LA ZONA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR”.

La presente entrevista permitirá conocer el proceso de elaboración de chocolate de mesa, la procedencia de la materia prima y los controles de calidad que se realizan para su elaboración.

Entrevista

1. ¿En qué año fue fundada la empresa?

Fue fundada en 1993, tenemos más de 20 años.

2. ¿Cuál es la materia prima que utiliza para la elaboración de chocolate de mesa?

Se utiliza cacao, vainilla, azúcar, canela y agua.

3. ¿Cuál es la procedencia del cacao que se ocupa como materia prima?, ¿Quién es su proveedor?

El cacao se compra en el mercado central y es procedente de Honduras.

4. ¿Qué tipo de productos a base de cacao elaboran?

Solo chocolate de tablilla.

5. ¿Quiénes son sus mayores compradores?

Callejas y Walmart

6. ¿Podría explicar el proceso de elaboración de chocolate?

Primero se limpia, la limpieza se hace manual como limpiar frijoles, luego se tuesta en tostador rotatorio, por 25 minutos una cantidad de 25 libras de cacao, luego se pasa al quebrado que se hace en molino de nixtamal y el molino tiene instalado un succionador de cascarilla, este proceso dura 10 minutos, luego se pasa a la etapa de molido para hacer la masa, donde se agrega agua que es tomada del chorro y es filtrada, se agregan 5 litros de agua, luego se pasa al moldeado y cada una de las tablillas se deja en reposo, para luego ser empacado.

7. ¿Sabe cómo calcular el porcentaje de cacao en el producto final?

No

8. ¿Qué equipos o utensilios ocupa en la elaboración de chocolate?

Se ocupa Molinos de nixtamal, mezcladora, tostadora para cacao y diferentes moldes para las distintas presentaciones de chocolate que se elaboran.

9. ¿De qué tipo de material son los equipos que utilizan para la elaboración de chocolate? ¿En qué año los compraron?

La mayoría son de elaboración artesanal y están hechos de láminas de acero inoxidable y se fueron construyendo a la medida del espacio de trabajo.

10. ¿Cuenta con un programa de control de limpieza de utensilios y equipos?

No

11. ¿El agua que utilizan para el proceso de elaboración de chocolate de donde proviene? (ANDA, pozo propio) ¿Existe algún pre-tratamiento antes de su uso?

Es agua de ANDA, se utiliza filtros y un sistema de luz ultravioleta.

12. ¿Cuenta con cisterna o filtros? ¿Cada cuánto tiempo realizan la limpieza de los filtros o cisterna?

La limpieza del filtro se realiza cada tres meses

13. ¿Cuáles son los parámetros de calidad que controlan en el producto terminado?

No se lleva a cabo la determinación de ningún parámetro, solamente cuando es chocolate para exportar se deja reposar 12 horas para que este pierda la humedad y

14. ¿Realizan pruebas de análisis microbiológico en el producto terminado?

No se realizan, solamente la prueba que se realizó cuando se sacó el permiso del registro sanitario.

15. ¿Realizan pruebas de análisis fisicoquímicos en el producto terminado?(Humedad, dureza)

No se realizan

16. ¿Agregan algún tipo de preservante para la prolongación del producto? ¿En qué proporción lo agregan?

Se agrega Benzoato de sodio en una medida de 2 onzas por 23 lb de cacao tostado.

17. ¿Cuánto es el tiempo de vida de anaquel que le dan al producto? (Fecha de vencimiento).

Un periodo de 4 meses.

18. ¿Ha pensado en exportar su producto?

Si, a veces exportamos por medio de encomiendas hemos enviado chocolate a Estados Unidos y países de Europa, cuando extranjeros nos visitan y nos piden pedidos de tablillas de chocolate para llevarlas a su país.

19. ¿Si, desea exportar sabe cuáles son los controles de calidad que se requiere para el producto?

No

20. ¿Qué sabe de la contaminación de metales pesados en alimentos?

Desconozco el tema

21. ¿Conoce el cadmio?

No

22. ¿Tiene algún conocimiento de los límites máximos de cadmio en chocolate?

No

La información brindada será para uso estrictamente académico.

¡¡Gracias!!



Ministerio de Salud
Región de Salud Metropolitana



Acta de Inspección Sanitaria

Nombre del Establecimiento: [Redacted] (tablita)
 Tipo de Establecimiento: [Redacted] dr.
 Dirección: Cd. Poma [Redacted]
 Nombre del Propietario: [Redacted]
 Administrador: [Redacted] Licencia Sanitaria: [Redacted] Teléfono: 2223 20 63
 No. de trabajadores: M 7 F 2 T 9 %
 Evaluación: _____ %
 Sr.(a): _____

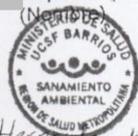
Las deficiencias encontradas en su establecimiento y que se detallan a continuación, deberán corregirse en el plazo indicado para cada una de ellas. El _____ de _____ de _____, se hará reinspección para constatar su corrección.

Observaciones y Recomendaciones:

Este día presente en el establecimiento arriba indicado con el objetivo de realizar inspección sanitaria como visita de control, aplicándose la ficha sanitaria correspondiente R.T.C.A. 67.01.33.06 para fabricas de alimentos procesados. Con 83.5% manteniendo puntaje mínimo más. Sin embargo se tienen algunas correcciones las cuales se entregaron por escrito a la interesada quien forma de enterado, acompañaron alumnos de la UES.

Doy por aceptadas las recomendaciones del señor inspector y me comprometo a cumplirlas. Lugar y fecha San Salvador, 16 de Julio de 2016

Propietario o (firma) [Redacted] Inspector (firma) [Signature]
 Administrador (Nombre) Oscar Antonio Rivera
 DUI: 11561 00000 Mifa Barón J. T. S.A.



Karla Hernández UES
Andrea Alejandra Rodríguez Menjívar UES
Andrea Ruiz UES

Ornedeida Be Herrán UES
[Signature] UES

Figura B- 2 Acta de Inspección Sanitaria a empresa "G"

Anexo C. Programación para la toma de muestras de chocolate de mesa.

Marca de chocolate	Sucursal	Dirección	Fecha de toma de muestra
Chocolate Criollo	Selectos Escalón	Paseo General Escalón entre 77y 79 Av.	18 y 19-junio-2016
	Selectos Metrocentro	Metrocentro 6a Etapa, S.S	
	*DDJ Escalón Norte	Prolongación Alameda Juan Pablo II y avenida Napoleón Viera	
	Selectos San Luis	Calle San Antonio Abad y Av. Izalco	
El Buen Chocolate	Selectos Miralvalle	Bulevar Constitución y Condominio Balam Acab.	25 y 26-junio-2016
	Selectos España	Entre Avenida España y Tercera Calle Poniente.	
	Selectos Autopista Sur	Centro Comercial Autopista Sur # 52	
	Selectos Trigueros	25 Av. Norte No 1138, S.S.	
Chocolate Super	*DDJ La Cima	29 Calle Oriente y 10a avenida norte, San Salvador	2 y 3-julio-2016
	**DF Darío	7 Avenida Sur y Calle Rubén Darío N° 510	
	Walmart Escalón	Colonia Escalón entre la calle nueva 1 y la calle nueva 2, antiguo Híper Europa.	
Peka Maya	*DDJ la Terraza	29 Calle Oriente Y 10A. AV. Norte, San Salvador	9 y 10-julio-2016
	*DDJ Héroes	Centro Comercial Metro Centro	
	**DF San Jacinto	San Jacinto N°13 al poniente, 10 avenida sur, San Salvador.	

(Continuación)

Marca de chocolate	Sucursal	Dirección	Fecha de toma de muestra
Negrito	Mercado Central: Establecimiento 1 Establecimiento 2 Establecimiento 3 Establecimiento 4	12 Calle poniente y 17 Avenida Norte	15 y 16-julio-2016
Chocolate Artesanal	Mercado San Miguelito Establecimiento 1 Establecimiento 2 Establecimiento 3	Primera Avenida norte, San Salvador	15 y 16-julio-2016
	Mercado San Jacinto Establecimiento 1 Establecimiento 2	Avenida Cuba, San Salvador	
	Mercado la Tiendona Establecimiento 1 Establecimiento 2 Establecimiento 3 Establecimiento 4	Reloj de flores, San Salvador	

*DDJ: Despensa de Don Juan

**DF: Despensa Familiar

Anexo D. Informe de análisis de cadmio



Laboratorio Especializado en Control de Calidad

ESEBESA, S.A. DE C.V.

No. de Inscripción 357

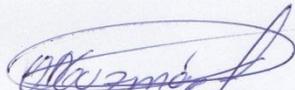
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador, C.A.
PBX: (503) 2525-0200 FAX: 2525-0222 • www.lecc.com.sv • E-mail: info@lecc.com.sv

INFORME DE ANÁLISIS

PROCEDENCIA: ANDREA ALEJANDRA RODRIGUEZ MENJIVAR	CONTROL: AL-610-177
MUESTRA: SOLUCION DE CHOCOLATE DE MESA, CODIGO M1	LOTE: NO DECLARA
	VENCIMIENTO: NO DISPONIBLE
	INGRESO: 26-OCT-2016
	MUESTREÓ: CLIENTE
	EMISIÓN: 08-NOV-2016

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Cadmio	No Disponible	0.009 mg/L
Método: Absorción Atómica con Horno de Grafito		
Fecha final de análisis: 08-nov-2016		

El informe corresponde a la muestra remitida y ensayada


Lic. Oscar David Guzmán Julián
Dir. Integración Técnica-Administrativa

Lic. OSCAR DAVID GUZMAN JULIAN
QUIMICO FARMACEUTICO
Insc. J.V.P.Q.F. No. 1810

Republica de El Salvador
D.N.M.
LABORATORIO ESPECIALIZADO
EN CONTROL DE CALIDAD LECC
No. Insc. 357
Prop. SOCIEDAD ESEBESA, S.A. DE C.V.
SAN SALVADOR, SAN SALVADOR



PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA POR LA DIRECCIÓN DE LECC
EL INFORME NO ES VALIDO SIN EL SELLO SECO DE LECC

Pag: 1 de 1

Laboratorio Acreditado por OSA bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025 en pruebas específicas para
aguas, lodos, alimentos, desinfectantes, superficies y productos farmacéuticos.



Laboratorio Especializado en Control de Calidad

ESEBESA, S.A. DE C.V.
No. de Inscripción 357

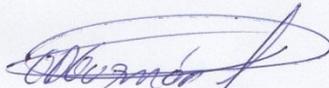
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador, C.A.
PBX: (503) 2525-0200 FAX: 2525-0222 • www.lecc.com.sv • E-mail: info@lecc.com.sv

INFORME DE ANÁLISIS

PROCEDENCIA:	ANDREA ALEJANDRA RODRIGUEZ MENJIVAR	CONTROL:	AL-610-178
MUESTRA:	SOLUCION DE CHOCOLATE DE MESA, CODIGO M2	LOTE:	NO DECLARA
		VENCIMIENTO:	NO DISPONIBLE
		INGRESO:	26-OCT-2016
		MUESTREÓ:	CLIENTE
		EMISIÓN:	08-NOV-2016

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Cadmio	No Disponible	0.017 mg/L
Método: Absorción Atómica con Horno de Grafito		
Fecha final de análisis: 08-nov-2016		

El informe corresponde a la muestra remitida y ensayada


Lic. Oscar David Guzmán Julián
Dir. Integración Técnica/Administrativa

Lic. OSCAR DAVID GUZMAN JULIAN
QUIMICO FARMACEUTICO
Insc. J.V.P.Q.F. No. 1810

República de El Salvador
D N M
LABORATORIO ESPECIALIZADO
EN CONTROL DE CALIDAD LECC
No. Inscip. 357
Prop. SOCIEDAD ESEBESA, S.A. DE C.V.
SAN SALVADOR. SAN SALVADOR.

LECC

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA POR LA DIRECCIÓN DE LECC
EL INFORME NO ES VALIDO SIN EL SELLO SECO DE LECC

Pag: 1 de 1

Laboratorio Acreditado por OSA bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025 en pruebas específicas para aguas, lodos, alimentos, desinfectantes, superficies y productos farmacéuticos.



Laboratorio Especializado en Control de Calidad

ESEBESA, S.A. DE C.V.
No. de Inscripción 357

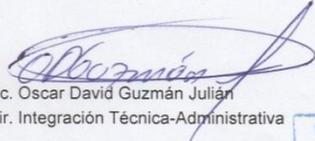
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador, C.A.
PBX: (503) 2525-0200 FAX: 2525-0222 • www.lecc.com.sv • E-mail: info@lecc.com.sv

INFORME DE ANÁLISIS

PROCEDENCIA:	ANDREA ALEJANDRA RODRIGUEZ MENJIVAR	CONTROL:	AL-610-179
MUESTRA:	SOLUCION DE CHOCOLÁTE DE MESA, CODIGO M3	LOTE:	NO DECLARA
		VENCIMIENTO:	NO DISPONIBLE
		INGRESO:	26-OCT-2016
		MUESTREÓ:	CLIENTE
		EMISIÓN:	08-NOV-2016

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Cadmio Método: Absorción Atómica con Horno de Grafito Fecha final de análisis: 08-nov-2016	No Disponible	0.007 mg/L

El informe corresponde a la muestra remitida y ensayada


Lic. Oscar David Guzmán Julián
Dir. Integración Técnica-Administrativa

Lic. OSCAR DAVID GUZMAN JULIAN
QUIMICO FARMACEUTICO
Insc. J.V.P.Q.F. No. 1810

República de El Salvador
D.N.M.
LABORATORIO ESPECIALIZADO
EN CONTROL DE CALIDAD LECC
No Inscip. 357
Prp. SOCIEDAD ESEBESA, S.A. DE C.V.
SAN SALVADOR SAN SALVADOR

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA POR LA DIRECCIÓN DE LECC
EL INFORME NO ES VALIDO SIN EL SELLO SECO DE LECC

Pag: 1 de 1

Laboratorio Acreditado por OSA bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025 en pruebas específicas para
aguas, lodos, alimentos, desinfectantes, superficies y productos farmacéuticos.



Laboratorio Especializado en Control de Calidad

ESEBESA, S.A. DE C.V.
No. de Inscripción 357

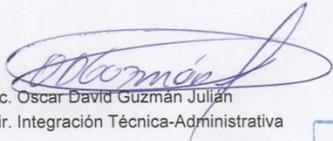
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador, C.A.
PBX: (503) 2525-0200 FAX: 2525-0222 • www.lecc.com.sv • E-mail: info@lecc.com.sv

INFORME DE ANÁLISIS

PROCEDENCIA: ANDREA ALEJANDRA RODRIGUEZ MENJIVAR	CONTROL: AL-610-180
MUESTRA: SOLUCION DE CHOCOLÁTE DE MESA, CODIGO M4	LOTE: NO DECLARA
	VENCIMIENTO: NO DISPONIBLE
	INGRESO: 26-OCT-2016
	MUESTREÓ: CLIENTE
	EMISIÓN: 08-NOV-2016

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Cadmio Método: Absorción Atómica con Horno de Grafito Fecha final de análisis: 08-nov-2016	No Disponible	0.008 mg/L

El informe corresponde a la muestra remitida y ensayada


Lic. Oscar David Guzmán Julián
Dir. Integración Técnica-Administrativa

Lic. OSCAR DAVID GUZMAN JULIAN
QUIMICO FARMACEUTICO
Insc. J.V.P.Q.F. No. 1810

República de El Salvador
D.N.M.
LABORATORIO ESPECIALIZADO
EN CONTROL DE CALIDAD LECC
No. Inscrip. 357
Prop. SOCIEDAD ESEBESA, S.A. DE C.V.
SAN SALVADOR SAN SALVADOR

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA POR LA DIRECCIÓN DE LECC
EL INFORME NO ES VALIDO SIN EL SELLO SECO DE LECC

Pag: 1 de 1

Laboratorio Acreditado por OSA bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025 en pruebas específicas para
aguas, lodos, alimentos, desinfectantes, superficies y productos farmacéuticos.



Laboratorio Especializado en Control de Calidad

ESEBESA, S.A. DE C.V.
No. de Inscripción 357

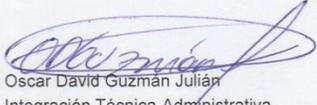
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador, C.A.
PBX: (503) 2525-0200 FAX: 2525-0222 • www.lecc.com.sv • E-mail: info@lecc.com.sv

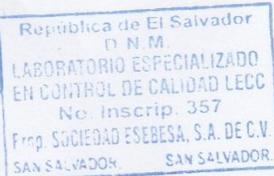
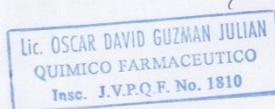
INFORME DE ANÁLISIS

PROCEDENCIA:	ANDREA ALEJANDRA RODRIGUEZ MENJIVAR	CONTROL:	AL-610-181
MUESTRA:	SOLUCION DE CHOCOLATE DE MESA, CODIGO M5	LOTE:	NO DECLARA
		VENCIMIENTO:	NO DISPONIBLE
		INGRESO:	26-OCT-2016
		MUESTREÓ:	CLIENTE
		EMISIÓN:	08-NOV-2016

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Cadmio	No Disponible	0.012 mg/L
Método: Absorción Atómica con Horno de Grafito		
Fecha final de análisis: 08-nov-2016		

El informe corresponde a la muestra remitida y ensayada


Lic. Oscar David Guzmán Julián
Dir. Integración Técnica-Administrativa



PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA POR LA DIRECCIÓN DE LECC
EL INFORME NO ES VALIDO SIN EL SELLO SECO DE LECC

Pag: 1 de 1

Laboratorio Acreditado por OSA bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025 en pruebas específicas para aguas, lodos, alimentos, desinfectantes, superficies y productos farmacéuticos.



Laboratorio Especializado en Control de Calidad

ESEBESA, S.A. DE C.V.

No. de Inscripción 357

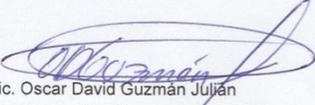
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador, C.A.
PBX: (503) 2525-0200 FAX: 2525-0222 • www.lecc.com.sv • E-mail: info@lecc.com.sv

INFORME DE ANÁLISIS

PROCEDENCIA: ANDREA ALEJANDRA RODRIGUEZ MENJIVAR	CONTROL: AL-610-182
MUESTRA: SOLUCION DE CHOCOLATE DE MESA, CODIGO M6	LOTE: NO DECLARA
	VENCIMIENTO: NO DISPONIBLE
	INGRESO: 26-OCT-2016
	MUESTREO: CLIENTE
	EMISIÓN: 08-NOV-2016

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Cadmio	No Disponible	0.015 mg/L
Método: Absorción Atómica con Horno de Grafito		
Fecha final de análisis: 08-nov-2016		

El informe corresponde a la muestra remitida y ensayada


Lic. Oscar David Guzmán Julián
Dir. Integración Técnica-Administrativa

Lic. OSCAR DAVID GUZMAN JULIAN
QUIMICO FARMACEUTICO
Insc. J.V.P.Q.F. No. 1810

Republica de El Salvador
D.N.M.
LABORATORIO ESPECIALIZADO
EN CONTROL DE CALIDAD LECC
No. Insc. 357
Emp. SOCIEDAD ESEBESA, S.A. DE C.V.
SAN SALVADOR, SAN SALVADOR.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA POR LA DIRECCIÓN DE LECC
EL INFORME NO ES VALIDO SIN EL SELLO SECO DE LECC

Pag: 1 de 1

Laboratorio Acreditado por OSA bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025 en pruebas específicas para
aguas, lodos, alimentos, desinfectantes, superficies y productos farmacéuticos.



Laboratorio Especializado en Control de Calidad

ESEBESA, S.A. DE C.V.
No. de Inscripción 357

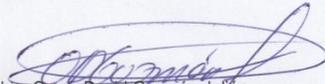
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador, C.A.
PBX: (503) 2525-0200 FAX: 2525-0222 • www.lecc.com.sv • E-mail: info@lecc.com.sv

INFORME DE ANÁLISIS

PROCEDENCIA: ANDREA ALEJANDRA RODRIGUEZ MENJIVAR	CONTROL: AL-610-183
MUESTRA: SOLUCION BLANCO 1	LOTE: NO DECLARA
	VENCIMIENTO: NO DISPONIBLE
	INGRESO: 26-OCT-2016
	MUESTREÓ: CLIENTE
	EMISIÓN: 08-NOV-2016

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Cadmio	No Disponible	Menor de 0.005 mg/L
Método: Absorción Atómica con Horno de Grafito		
Fecha final de análisis: 08-nov-2016		

El informe corresponde a la muestra remitida y ensayada


Lic. Oscar David Guzmán Julián
Dir. Integración Técnica-Administrativa

Lic. OSCAR DAVID GUZMAN JULIAN
QUIMICO FARMACEUTICO
Insc. J.V.P.Q.F. No. 1810

Republica de El Salvador
D N M
LABORATORIO ESPECIALIZADO
EN CONTROL DE CALIDAD LECC
No. Insc. 357
Fmp. SOCIEDAD ESEBESA, S.A. DE C.V.
SAN SALVADOR SAN SALVADOR

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA POR LA DIRECCIÓN DE LECC
EL INFORME NO ES VALIDO SIN EL SELLO SECO DE LECC

Pag: 1 de 1

Laboratorio Acreditado por OSA bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025 en pruebas específicas para aguas, lodos, alimentos, desinfectantes, superficies y productos farmacéuticos.

Anexo E. Prueba Q de Dixon para valores atípicos

Un valor atípico es una observación con un valor que no parece corresponderse con el resto de los valores en el grupo de datos. Los valores atípicos también suelen llamarse valores aberrantes o inconsistentes.

Identificación de valores atípicos en el conjunto de datos obtenidos de concentración de cd en muestras de chocolate de mesa.

Tabla E-1 Resultados obtenidos de la concentración de cadmio en chocolate de mesa

Código	Resultado
M1	0.006 mg/kg
M2	0.018 mg/kg
M3	0.003 mg/kg
M4	0.004 mg/kg
M5	0.010 mg/kg
M6	0.015 mg/kg

Los resultados obtenidos se muestran graficados en la Figura E-1, que representa la distribución de los datos obtenidos.

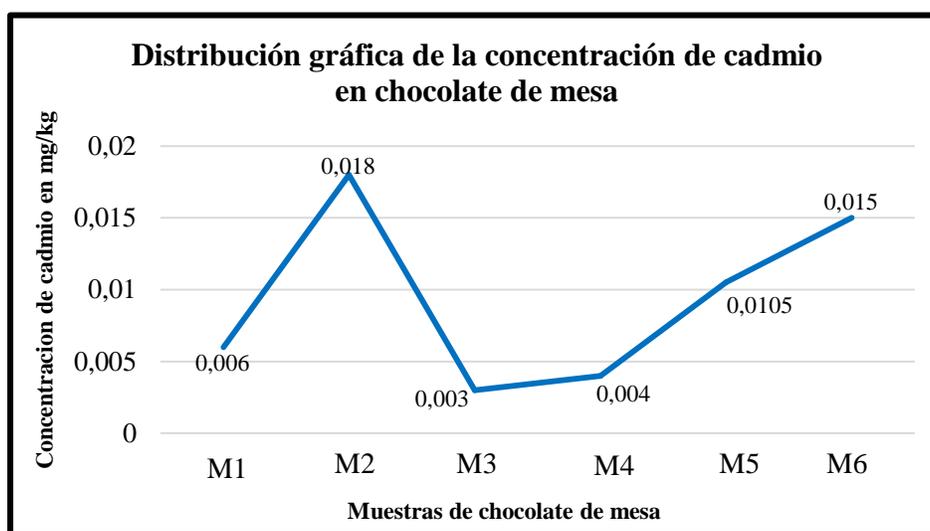


Figura E-1 Representación gráfica de los datos de concentración de cadmio de las muestras de chocolate de mesa

Del grupo de datos obtenidos, el valor de 0.018 mg/kg parece ser un valor atípico por estar por encima de los demás valores encontrados. Para un análisis estadístico utilizaremos la prueba de Dixon, el tamaño de la muestra es 6 y la relación utilizada es el espacio entre el valor atípico (0.018) y su vecino próximo (0.015), dividido por el espacio entre los valores más grandes y más pequeños del grupo, por lo tanto el índice de Dixon es:

$$\frac{0.018-0.015}{0.018-0.003} = 0.2$$

Este valor se compara con un valor crítico presentada en la tabla de valores críticos de Dixon y el valor encontrado se declara valor atípico si supera ese valor crítico, para el valor encontrado de 0.2 el valor crítico, se utiliza el 5% de nivel de riesgo para rechazar un dato válido. A continuación se presenta el valor crítico encontrado:

n	CL SL α	70% 30%	80% 20%	90% 10%	95% 5%	98% 2%	99% 1%	99.5% 0.5%
3		0.6836	0.7808	0.8850	0.9411	0.9763	0.9881	0.9940
4		0.4704	0.5603	0.6789	0.7651	0.8457	0.8886	0.9201
5		0.3730	0.4508	0.5578	0.6423	0.7291	0.7819	0.8234
6		0.3173	0.3868	0.4840	0.5624	0.6458	0.6987	0.7437
7		0.2811	0.3444	0.4340	0.5077	0.5864	0.6371	0.6809
8		0.2550	0.3138	0.3979	0.4673	0.5432	0.5914	0.6336
9		0.2361	0.2915	0.3704	0.4363	0.5091	0.5554	0.5952
10		0.2208	0.2735	0.3492	0.4122	0.4813	0.5260	0.5658
11		0.2086	0.2586	0.3312	0.3922	0.4591	0.5028	0.5416
12		0.1983	0.2467	0.3170	0.3755	0.4405	0.4831	0.5208
13		0.1898	0.2366	0.3045	0.3615	0.4250	0.4664	0.5034
14		0.1826	0.2280	0.2938	0.3496	0.4118	0.4517	0.4869
15		0.1764	0.2202	0.2848	0.3389	0.3991	0.4385	0.4739
16		0.1707	0.2137	0.2765	0.3293	0.3883	0.4268	0.4614
17		0.1656	0.2077	0.2691	0.3208	0.3792	0.4166	0.4504
18		0.1613	0.2023	0.2626	0.3135	0.3711	0.4081	0.4423
19		0.1572	0.1973	0.2564	0.3068	0.3630	0.4002	0.4333
20		0.1535	0.1929	0.2511	0.3005	0.3562	0.3922	0.4247
21		0.1504	0.1890	0.2460	0.2947	0.3495	0.3854	0.4173
22		0.1474	0.1854	0.2415	0.2895	0.3439	0.3789	0.4109
23		0.1446	0.1820	0.2377	0.2851	0.3384	0.3740	0.4051
24		0.1420	0.1790	0.2337	0.2804	0.3328	0.3674	0.3996
25		0.1397	0.1761	0.2303	0.2763	0.3287	0.3625	0.3935
26		0.1376	0.1735	0.2269	0.2725	0.3242	0.3583	0.3889
27		0.1355	0.1710	0.2237	0.2686	0.3202	0.3543	0.3843
28		0.1335	0.1687	0.2208	0.2655	0.3163	0.3499	0.3801
29		0.1318	0.1664	0.2182	0.2622	0.3127	0.3460	0.3762
30		0.1300	0.1645	0.2155	0.2594	0.3093	0.3425	0.3718
31		0.1283	0.1624	0.2132	0.2567	0.3060	0.3390	0.3685
32		0.1268	0.1604	0.2110	0.2541	0.3036	0.3357	0.3646
33		0.1255	0.1590	0.2088	0.2513	0.2999	0.3323	0.3610
34		0.1240	0.1571	0.2066	0.2488	0.2973	0.3294	0.3583
35		0.1227	0.1555	0.2045	0.2467	0.2948	0.3266	0.3548
36		0.1215	0.1540	0.2026	0.2445	0.2921	0.3238	0.3522
37		0.1202	0.1525	0.2008	0.2423	0.2898	0.3213	0.3498
38		0.1192	0.1512	0.1993	0.2408	0.2879	0.3187	0.3465
39		0.1181	0.1499	0.1974	0.2383	0.2853	0.3163	0.3443
40		0.1169	0.1484	0.1958	0.2366	0.2836	0.3141	0.3415

Figura E-2. Valores críticos de Q-Dixon

Fuente: (Bonilla G., 1997)

Para un $n = 6$ y un riesgo del 5%, el valor crítico es 0.5624. El índice de Dixon encontrado es de 0.20, este valor no excede el valor crítico, indicando que el valor 0.018 no es un valor atípico; por lo tanto no se puede excluir el dato

Anexo F. Determinación de contenido de materia seca de cacao en chocolate de mesa

Para determinar el contenido de materia seca de cacao, se visitó una de las empresas productoras de chocolate de mesa de una de las marcas en análisis, el procedimiento de elaboración de chocolate se puede observar en el Anexo B.

Conociendo el diagrama de proceso (Ver Figura B-1, del Anexo B) se realiza un balance de masa en la etapa de mezclado, en la Tabla F-1 se presentan las cantidades de ingredientes para la elaboración de chocolate de mesa, realizando las conversiones de unidades de medidas a libra, obtenemos los siguientes resultados.

Tabla F-1 Cantidad de ingredientes para elaboración de chocolate de mesa

Ingredientes	Cantidad	Cantidad en Libras
Cacao	23 lb	23 lb
Azúcar	110 lb	110 lb
Agua	5 L	11.023 lb
Vainilla	2.7 onza	0.169 lb
Canela	2 onza	0.125 lb
Sorbato de Sodio	2 onza	0.125 lb
TOTAL		144.442 lb

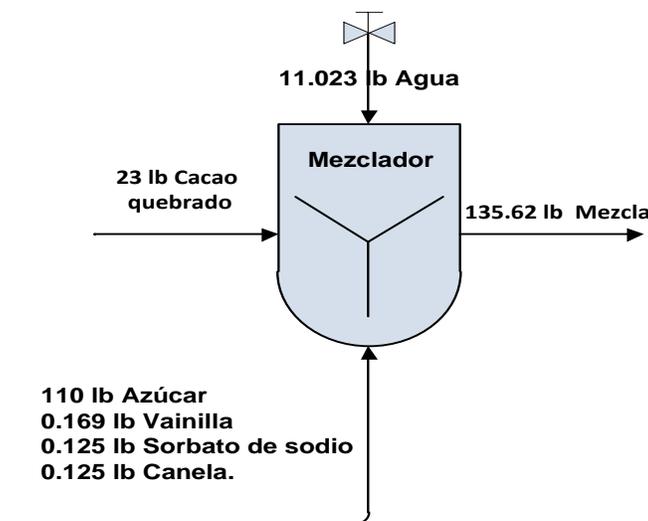


Figura F-1 Balance de masa en mezclador

Con las cantidades obtenidas y utilizando la Ecuación F-1 se determina los porcentajes de cacao de la mezcla en base húmeda.

$$\% \text{ Ingrediente (a)} = \frac{m}{MTH} \times 100 \quad (\text{Ecuación F-1})$$

Dónde:

m = masa de ingrediente (Cacao, azúcar, agua, etc)

MTH = Masa Total Húmeda (144.442 lb)

Determinando el contenido de cacao en base húmeda

$$\% \text{ Ingrediente (Cacao)} = \frac{23 \text{ lb}}{144.442 \text{ lb}} \times 100$$

$$\% \text{ Ingrediente (Cacao)} = 15.92 \%$$

Para determinar los porcentajes de cada uno de los ingredientes se realiza el cálculo correspondiente utilizando la Ecuación F-1, los resultados se presentan en la Tabla F-2.

Tabla F-2 Porcentaje de ingredientes de chocolate de mesa en base húmeda

Ingredientes	Cantidad (lb)	Ingredientes %
Cacao	23	15.92
Azúcar	110	76.15
Agua	11.023	7.64
Vainilla	0.169	0.117
Canela	0.125	0.087
Sorbato de Sodio	0.125	0.087
TOTAL	144.442 lb	100%

Para determinar el porcentaje de materia seca de cacao, se debe restar el contenido de agua de la masa total, para realizar un balance de masa en base seca.

$$\text{Masa Total Seca} = \text{Masa Total Húmeda} - \text{Masa de agua} \quad (\text{Ecuación F-2})$$

Sustituyendo en Ecuación F-2

$$\text{Masa Total Seca} = 144.442 \text{ lb} - 11.023 \text{ lb}$$

$$\text{Masa Total Seca} = 133.419 \text{ lb}$$

Determinando el balance de masa en base seca:

$$\% \text{ Ingrediente (a)} = \frac{m}{MTS} \times 100 \quad (\text{Ecuación F-3})$$

Dónde:

m = masa de ingrediente (Cacao, azúcar, agua, etc)

MTS = Masa Total Seca (133.419 lb)

Determinando el contenido de cacao en base seca:

$$\% \text{ Ingrediente (Cacao)} = \frac{23 \text{ lb}}{133.419 \text{ lb}} \times 100$$

$$\% \text{ Ingrediente (Cacao)} = 17.24 \%$$

Para determinar los porcentajes de cada uno de los ingredientes en base seca se realiza el cálculo correspondiente utilizando la Ecuación F-3, los resultados se presentan en la Tabla F-3.

Tabla F-3 Porcentaje de ingrediente de chocolate de mesa en base seca

Ingredientes	Cantidad (lb)	Ingredientes %
Cacao	23	17.24
Azúcar	110	82.45
Vainilla	0.169	0.13
Canela	0.125	0.09
Sorbato de Sodio	0.125	0.09
Masa Total Seca	133.419 lb	100%

El porcentaje de materia seca total de cacao es de 17.24% de la mezcla total de chocolate de mesa

Anexo G. Informe de análisis microbiológico



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



162 Años
Al servicio de la
Educación Superior

Ciudad Universitaria
Finca 25 Avenida Norte
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 2511-2028

INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M1 Código: 040717

Elaboración : No tiene Vencimiento: 30/11/16 Lote No. No tiene

Punto de muestreo: Fábrica

Procedencia: Col. Tecnico Industrial Pje E, No. 4

Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016

Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa

Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.

Fecha de Muestreo: 18-06-2016 Hora de Muestreo: 11:30 am

Persona que tomó la muestra: Eneida Beltrán

Fecha recepción muestra: 29/06/2016

Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; **g:** gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016



MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M2 Código: 040718
 Elaboración : 13/06/16 Vencimiento: 30/10/16 Lote No. No tiene
 Punto de muestreo: Muestra tomada directamente del lugar de fabricación
 Procedencia: Urbanización Tecnico Industrial
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
 Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: 16-06-2016 Hora de Muestreo: 10:30 am
 Persona que tomó la muestra: Andrea Rodríguez
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Presencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M3 Código: 040719
 Elaboración : 20/02/16 Vencimiento: 31/07/16 Lote No. 20-02-16
 Punto de muestreo: Lugar limpio, cerca del café, ultimo estante suelo
 Procedencia: Walmart Escalón
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
 Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: 19-06-2016 Hora de Muestreo: 4:00 pm
 Persona que tomó la muestra: Eneida Beltrán
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Presencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



162 Años
Al servicio de la
Educación Superior

Ciudad Universitaria
Final 25 Avenida Norte
San Salvador, El Salvador

Telefax No. (503) 2511-2028

INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M4 Código: 040720
 Elaboración: No tiene Vencimiento: 01-2017 Lote No. No tiene
 Punto de muestreo: Estante limpio, distribución de chocolate en una sola columna
 Procedencia: Prolongación Alameda Juan Pablo II y Av. Napoleón Viera
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: 19-06-16 Hora de Muestreo: 1:27 pm
 Persona que tomó la muestra: Karla Hernández
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Presencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


 MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
 QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M5 Código: 040721
 Elaboración : No tiene Vencimiento: No tiene Lote No. No tiene
 Punto de muestreo: Almacenado higiénicamente en una vitrina de vidrio
 Procedencia: Mercado Central S.S.
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
 Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: 28-06-16 Hora de Muestreo: 10:30 am
 Persona que tomó la muestra: Andrea Rodríguez
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

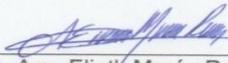
Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


 MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
 QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M6 Código: 040722
 Elaboración: No tiene Vencimiento: 02/10/16 Lote No. No tiene
 Punto de muestreo: almacenado en huacal
 Procedencia: Mercado Central S.S.
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
 Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: 28-06-16 Hora de Muestreo: 11:15 am
 Persona que tomó la muestra: Andrea Rodríguez
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

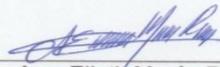
Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Presencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


 MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
 QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO**



162 Años
Al servicio de la
Educación Superior

Ciudad Universitaria
Fiscal 25 Avenida Norte
San Salvador, El Salvador

Teléfono No. (503) 2511-2028

INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M7 Código: 040723
 Elaboración: No tiene Vencimiento: 21/10/16 Lote No. No tiene
 Punto de muestreo: Artesanal
 Procedencia: Mercado San Jacinto
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
 Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: No indicada Hora de Muestreo: 2:00 pm
 Persona que tomó la muestra: Eneida Beltrán
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Presencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M8 Código: 040724
 Elaboración : 16/16/16 Vencimiento: 16/08/16 Lote No. No tiene
 Punto de muestreo: Artesanal, no registrado
 Procedencia: Mercado San Jacinto
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
 Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: No indicada Hora de Muestreo: 2:00 pm
 Persona que tomó la muestra: Eneida Beltrán
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


 MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
 QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016



INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: Chocolate de tablilla M9 Código: 040725
 Elaboración: No tiene Vencimiento: No tiene Lote No. No tiene
 Punto de muestreo: Artesanal, no registrado
 Procedencia: Calle Concepción 1030, San Salvador (Tiendona)
 Solicitante: Eneida Beltrán Fecha de emisión: 15-08-2016
 Determinación de Coliformes Totales y Fecales por el Método de vertido en placa
 Método: (UFC/g), Determinación de Salmonella por el método de ausencia-presencia.
 Fecha de Muestreo: 25-06-16 Hora de Muestreo: 5:10 pm
 Persona que tomó la muestra: Karla Acosta
 Fecha recepción muestra: 29/06/2016

Descripción: Producto sólido de color café oscuro, con olor característico a chocolate.

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES ⁽¹⁾
Bacterias coliformes totales	Menor de 10 UFC/g	10 UFC/g ⁽²⁾
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia	Ausencia

UFC: Unidades formadoras de Colonias; g: gramo de muestra

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2013, Cacao, chocolate y productos similares, y derivados del cacao. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. Métodos de prueba.
- (2) Especificación basada en m3 que indica un límite microbiológico que separa la buena calidad de la calidad defectuosa en un plan de dos clases o la buena calidad de la calidad marginalmente aceptable en un plan de 3 clases.
- (3) El informe corresponde únicamente a la muestra remitida el 29/06/2016 y ensayada el 04/07/2016


 MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez
 QUIMICO-FARMACEUTICA



Fecha de análisis: 04-07-2016