

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



**IDENTIFICACION DE GRASAS TRANS EN MUESTRAS DE CHOCOLATE
BLANCO MEDIANTE EL METODO DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR
CLAUDIA LISSETTE ELIAS CALLES
PATSY PAOLA PEREZ MELGAR

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

JUNIO, 2014
SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL:

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO:

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DEL ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS, COSMETICOS Y VETERINARIOS:

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

ASESORA DEL ÁREA DE QUIMICA AGRICOLA:

MAe María Elisa Vivar de Figueroa

DOCENTE DIRECTOR:

Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a:

Dios por tantas Bendiciones en el transcurso de nuestras vidas y porque nos permitió terminar con éxito nuestra carrera profesional.

A nuestras familias por el apoyo que día a día nos brindaron y las palabras de motivación en el momento preciso.

A Lic. Henry Hernández, por transmitir sus valiosos conocimientos, por su paciencia y apoyo incondicional en todo momento.

A Licda. Odette Rauda, coordinadora general de trabajos de graduación, por sus consejos y correcciones para realizar un buen trabajo de graduación.

A Licda. Zenia Ivonne de Márquez y MSc. María Elisa Vivar de Figueroa, asesoras de área por sus consejos, correcciones y tiempo dedicado a lo largo de nuestro trabajo de graduación.

Y a cada una de las personas que a lo largo de nuestra carrera nos brindaron su apoyo, compañía, y motivación, hasta terminar nuestro trabajo de graduación.

Claudia y Patsy

DEDICATORIA

Dedico con mucho cariño:

A Dios por lo maravilloso que es conmigo y me brinda tantas bendiciones sin merecerlo.

Para mi familia, a mi madre Blanca Lilian que ha sido un pilar fundamental en mi vida, siempre ha estado conmigo y me ha brindado palabras de aliento y consuelo.

A mis hermanas Karla y Alba ya que con su apoyo me han brindado sus sabios consejos y animo en cada etapa de mi carrera.

A mis hermanas Rocío y Blanca aunque sean mis hermanitas menores me han demostrado que tienen una gran determinación y fortaleza y me han transmitido el empuje para terminar con orgullo mi carrera.

A mi Amiga y compañera de tesis Patsy Pérez ya que juntas unimos esfuerzo para llevar a cabo este trabajo de graduación y en el proceso pasamos juntas muchos momentos agradables.

Para cada uno de mis amigos ya que hemos estado juntos en las buenas y malas viviendo muchos momentos inolvidables y esforzándonos a cada año de nuestra carrera.

Al licenciado Henry Hernández ya que no brindó su apoyo y su conocimiento para poder culminar con nuestro trabajo de graduación.

Claudia Calles

DEDICATORIA

A Dios por todas las Bendiciones que me ha regalado a lo largo de esta carrera y haberme dado la Sabiduría y fortaleza para culminar satisfactoriamente mis estudios.

A mi mamá Carmen Melgar y a mis hermanos Henry y Eduardo, por enseñarme tanto, por motivarme siempre a seguir adelante y por su apoyo incondicional.

A mi papá Pablo Pérez que desde el cielo sé que siempre está pendiente de mí y me Bendice, éste triunfo es de ambos.

A mis colegas y amigos Jennifer Hernández, Magaly Lucha, Adriana Gonzáles, Diana Roble, Mirna Arriola, Lorena Cuellar, Rafael Bolaños y Sandra Quintanar, ya que comenzamos juntos este camino y ahora celebran conmigo este logro.

A mis amigos Medardo Cazún y Arístides Hidalgo que aún en la distancia siempre han tenido palabras de aliento en el momento oportuno y me han enseñado a no renunciar a los sueños.

A todo el personal de la Junta de Vigilancia de la Profesión Químico Farmacéutica (gestión 2013-2014), Licda. Laura Navas de Mena por haberme permitido aprender tanto cada día y a mi compañero en Servicio Social Julio Galindo por todas sus palabras de aliento.

A nuestro asesor Lic. Henry Hernández por su paciencia y su apoyo para llevar a cabo éste trabajo de graduación.

Finalmente, pero no menos importante a mi compañera de Tesis Claudia Calles por haber aceptado subir esta cuesta conmigo, por permitirme aprender tanto de ella, por todas las alegrías y por toda la paciencia.

Patsy Pérez

INDICE GENERAL

	Pág.
Capítulo I	
1.0 Introducción	xviii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	21
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	23
3.1 Historia del Chocolate	23
3.2 Descripción Botánica	25
3.3 Fabricación del Chocolate	27
3.3.1 Recolección	27
3.3.2 Tratamientos del fruto para la elaboración del chocolate	28
3.4 Composición del Chocolate Blanco	30
3.4.1 Manteca de Cacao	30
3.4.2 Grasas Lácteas	32
3.4.3 Azúcares	32
3.5 Lípidos	33
3.6 Grasas Trans	34
3.7 Espectroscopía Infrarroja	37
3.7.1 Instrumentación	38
3.7.1.1. Ácidos Grasos	39

Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	41
4.1 Tipo de Estudio	42
4.2 Investigación Bibliográfica	42
4.3 Investigación de Campo	43
4.4 Parte Experimental	45
4.4.1 Adquisición y Transporte de la Muestra	45
4.4.2 Método de Análisis	46
4.4.3 Desarrollo Analítico	46
Capítulo V	
5.0 Resultados	49
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	90
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	93
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Pág.
1	Árbol de <i>Theobroma cacao</i>	25
2	Tipos de Vaina de cacao	26
3	Esquema del tratamiento del fruto para la elaboración de chocolate blanco.	29
4	Representación de la Isomería Trans.	34
5	Esquema de un instrumento de transformada de Fourier.	39
6	Etiqueta utilizada para la identificación en la toma de muestras.	45
7	Fórmula estructural del ácido esteárico	55
8	Espectro de la manteca de cacao que contiene las señales características del Ácido Esteárico; enlace C=O que aparece en el espectro entre 1690-1760, señal más amplia que está entre 2800 y 3000 cm^{-1} se debe a las vibraciones de tensión de C-H.	56
9	Espectro de Trielaidina 99% utilizado como estándar positivo.	60
10	Espectro obtenido de la mezcla de Manteca de Cacao con Trielaidina 99% utilizado como estándar de Trabajo.	62
11	Espectro obtenido del acoplamiento de la mezcla de Manteca de Cacao con Trielaidina 99% y Manteca de Cacao Materia Prima.	64
12	Espectro obtenido del acoplamiento de los espectros del estándar de Trabajo, la mezcla de Manteca de Cacao con Trielaidina 99% y de la Manteca de Cacao como materia prima.	66
13	Espectro correspondiente a la marca Garoto Talento en	68

	su presentación como Tablilla con cereal crocante.	
14	Espectro correspondiente a la marca Garoto Mundy en su presentación como bombones de chocolate relleno.	70
15	Espectro correspondiente a la marca Azulejo en su presentación como tablilla de chocolate Macizo.	72
16	Espectro correspondiente a la marca Hershey's Bliss en su presentación como chocolate blanco con relleno.	74
17	Espectro correspondiente a la marca Hershey's Cookies 'n' creme en su presentación como tablilla de chocolate con galleta	76
18	Espectro correspondiente a la marca Sanborn's en su presentación como figura de chocolate blanco.	78
19	Espectro correspondiente a la marca Shaw's en su presentación como chocolate Blanco con Semillas de Marañón y Almendra.	80
20	Espectro correspondiente a la Marca Shaw's en su presentación como chocolate blanco en forma de biberón.	82

INDICE DE TABLAS

TABLA N°		Pág.
1	Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Súper Selectos décima etapa, Metrocentro.	43
2	Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Simán cuarta etapa, Metrocentro.	44
3	Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Sanborns octava etapa, Metrocentro.	44
4	Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Shaw's cuarta etapa, Metrocentro.	44
5	Asignación de código de muestras de chocolate blanco según su procedencia.	51
6	Marcas de chocolate blanco con sus porcentajes correspondientes y su presentación.	54
7	Resultados de las muestras de Chocolate Blanco recolectados.	57
8	Directrices del Códex Alimentarius sobre Etiquetado Nutricional en cuanto a etiquetado de grasas trans.	85

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°		Pág
1	Declaración del contenido total de grasas	37
2	Etiquetado Nutricional de chocolate blanco marca Azulejo en su presentación como Tablilla de	86
3	Etiquetado Nutricional de chocolate blanco marca Hershey's Cookies 'n' Cream en su presentación como Tablilla de chocolate con galleta	87
4	Etiquetado Nutricional de chocolate blanco marca Garoto Talento en su presentación como Tablilla	88
5	Etiquetado Nutricional de Chocolate Blanco marca Garoto Mundy en su presentación como Chocolate Relleno	89

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Sitio de recolección de muestras: establecimientos localizados al interior de Metrocentro San Salvador.
- 2 Guía de Observación para conocer las presentaciones y marcas existentes de chocolate blanco.
- 3 AOAC Official Method 2000.10
Determination of Total Isolated Trans Unsaturated Fatty Acids in Fats and Oils by ATR-FTIR.
- 4 Procedimiento para operación del equipo de espectrofotometría infrarrojo IR-Shimadzu Affinity.
- 5 Fotografías de codificado de las 5 marcas de chocolate blanco con las etiquetas.
- 6 Pesada de muestras de chocolate blanco y del equipo Baño María Precitherm PFV.
- 7 Celda de Reflectancia Total Atenuada en la que se realizaron los análisis de chocolate Blanco y Soporte de Celda.
- 8 Especificaciones del espectrofotómetro de transformada de Fourier.

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
IR	Infrarrojo
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
OMS	Organización Mundial de la Salud
NIR	Infrarrojo Cercano
FT	Transformada de Fourier
GLC	Cromatografía de Gases
ATR	Reflectancia Total Atenuada
BKG	Background
NSO	Norma Salvadoreña Obligatoria
UIQPA	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
AOAC	Asociación Oficial de Químicos Analistas

RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad identificar grasas trans en muestras de chocolate blanco por medio del método de espectroscopía infrarroja de Transformada de Fourier, llevando a cabo la toma de muestras en diferentes establecimientos ubicados dentro del Centro Comercial Metrocentro San Salvador.

Las muestras fueron seleccionadas de manera aleatoria a partir de una guía de observación que permitió reducirlas a 5 marcas de chocolate blanco (Garoto, Hershey's, Sanborn's, Azulejo y Shaw's), en sus diferentes presentaciones (tablilla, a granel, empaque para regalo y empaque individual) obteniéndose un total de 32 muestras las cuales se analizaron por duplicado. Su análisis se llevó a cabo en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, durante los meses de Julio y Agosto de 2013, aplicando el método oficial de la AOAC 2000:10 para la determinación de grasas trans por medio de Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier, determinando así la presencia o ausencia de grasas trans y haciendo uso de una mezcla de Manteca de Cacao con Trielaidina como estándar de trabajo.

Los resultados obtenidos reflejaron que en las treinta y dos (32) muestras de las cinco (5) marcas analizadas no se encontraron grasas Trans, ya que ninguna muestra presentó la deformación $C=C$ correspondiente al isómero trans que aparece cercano a los 966cm^{-1} el cual sí pudo ser evidenciado en el estándar de trabajo. Se verificó además el etiquetado nutricional de cada una de las muestras en cuanto a la declaración en su contenido de grasas trans, en donde las marcas Garoto y Hershey's cuentan con un etiquetado nutricional completo,

la marca Azulejo no declara el tipo de ácidos grasos que contiene y las marcas Shaw's y Sanborns no cuentan con un etiquetado nutricional y tampoco hacen una declaración de sus ingredientes.

Los ácidos grasos trans representan un riesgo para la salud al ser consumidos en exceso por lo que es necesario conocer e identificar aquellos productos alimenticios que los contienen, con la presente investigación se brinda información importante acerca de éste tipo de ácidos, motivando a la población a informarse y conocer los efectos a la salud derivados de su consumo y a las instituciones correspondientes facilitar ésta información e incentivar la realización de este tipo de investigaciones que favorecen el bienestar y salud de la población.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

El chocolate blanco es un producto elaborado a partir de manteca de cacao la cual es obtenida por extracción mediante el prensado de la almendra; además, en su composición se encuentran sólidos lácteos, grasa láctea, azúcares y otros edulcorantes, éste no es considerado un alimento ya que luego del proceso de prensado se extrae sólo la parte lipídica, en la cual puede encontrarse la presencia de grasas trans, las cuales se definen según el Codex alimentarius como todos los isómeros geométricos de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados que poseen en la configuración trans dobles enlaces carbono-carbono no conjugados.

Es necesario por tanto, que exista en la información nutricional detallada el contenido de grasa trans en el etiquetado de los diferentes productos de consumo ya que, todas las recomendaciones dietéticas actuales hacen hincapié en la necesidad de llevar a cabo una reducción en la ingesta de grasas saturadas puesto que estas representan un peligro considerable para la salud incrementando el riesgo a la población de padecer enfermedades cardíacas o aquellas relacionadas con el metabolismo. Sin embargo en nuestro país no existe una normativa que regule el contenido de grasas trans en alimentos.

La metodología analítica existente para el análisis de grasas trans es muy amplia, sin embargo son pocos los análisis que se han llevado a cabo en la determinación de grasas trans en el área de confitería. Es así como la presente investigación está enfocada en la determinación de grasas trans en chocolate blanco comercializado, la cual se realizó en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Universidad de El Salvador; utilizando el método de Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier para obtener el espectro correspondiente a grasas trans y poder, a partir de éste comparar mediante un estándar positivo la presencia o ausencia de grasas trans en muestras

seleccionadas de manera aleatoria de diferentes presentaciones de chocolate blanco comercializadas en supermercados y confiterías ubicadas dentro del centro comercial Metrocentro San Salvador durante el período de Febrero 2013 a Junio 2014.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Identificar grasas trans en muestras de chocolate blanco por medio del método de espectroscopía infrarroja.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

2.2.1 Realizar la toma de muestras de chocolate blanco en base a la guía de observación en establecimientos seleccionados ubicados dentro del centro comercial Metrocentro San Salvador.

2.2.2 Analizar las diferentes muestras recolectadas por medio del método de espectroscopía infrarroja transformada de Fourier.

2.2.3 Interpretar por medio de los espectros obtenidos, la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero trans.

2.2.4 Comparar los espectros obtenidos de las diferentes marcas con un estándar de trabajo de manteca de cacao con trielaidina como estándar positivo.

2.2.5 Verificar el cumplimiento del etiquetado en cuanto a contenido de grasas trans rotulado en la envoltura del producto.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1. HISTORIA DEL CHOCOLATE

El árbol del cacao es oriundo de América. Entre los pueblos que conocían su bebida se encontraban los olmecas, los mayas y siglos más tarde los aztecas. El nombre científico del árbol es *Theobroma cacao*, y su nombre de origen griego (Theobroma, “alimento de los dioses”) es en honor de los aztecas que le atribuían un origen divino. ⁽⁴⁾

En 1519, el explorador Hernán Cortés desembarcó junto con sus hombres en lo que es hoy el territorio de México con pretensión de conquistarlo. El emperador Moctezuma y su pueblo los confundieron con sus dioses creyendo que Cortés era la reencarnación de su querido dios. El año del “cuño” era exactamente el 1519. El conquistador español fue recibido con un gran banquete con tazas de oro llenas de *thocolat*. Allí pudo observar como los aztecas trataban la semilla del cacao: la usaban como bebida y como moneda de cambio, canjeando semillas por oro. Hernán Cortés mandó a España semillas de cacao. La bebida de chocolate fue calentada y se le agregaron endulzantes. Su fórmula se conservó en secreto porque se le trataba como una bebida real. Luego se popularizó de tal forma que llegó a ser considerada una bebida digna de reyes. En las cocinas de los monasterios se creaban nuevas recetas de chocolate, preparándolo con azúcar, canela, huevo, almendras y vainilla. A ellos se debe ese sabor tan dulce y agradable, que se identifica más con la combinación de chocolate que hoy en día conocemos. ⁽⁴⁾

Un problema con la bebida de chocolate era la gran cantidad de grasa. Más de la mitad del grano de cacao contiene manteca de cacao. Los holandeses, sin embargo, encontraron la manera de mejorar la bebida eliminando parte de esta grasa. En 1828 Van Houten desarrolló la prensa de cacao. Los cotiledones del grano de cacao (conocido como granos de cacao) fueron presionados para

producir un duro 'pastel' con cerca de la mitad de la grasa eliminada. Después de haber utilizado las prensas para extraer parte de la manteca de cacao, los productores de cacao en polvo se quedaron tratando de encontrar un mercado para esta grasa. Esto se resolvió por los confiteros quienes encontraron que al mezclar azúcar, leche y granos de cacao con esta grasa se forma una barra dura uniforme que se conoce hoy en día, como chocolate blanco el cual se funde suavemente en la boca. ⁽³⁾

El chocolate blanco, aparece en Europa (más concretamente en Suiza) tras la primera Guerra Mundial. El primer chocolate comercial fue producido en 1930 por la compañía Nestlé. Eran pequeñas barritas a las que llamaron Galak y que en España se conocen como Milkibar (barritas de leche), que no fueron comercializadas hasta 1962. En realidad la idea de la compañía era crear un producto con el sabor adictivo del chocolate y su característico sabor amargo. Su color se debe a su composición, siendo la manteca de cacao, el azúcar y la leche los integrantes de la misma (podemos apreciar que entre sus ingredientes no aparece la pasta de cacao y por ello carece de cualquier tonalidad oscura). El proceso de elaboración de este chocolate es completamente idéntico que el de los otros chocolates, alterando las proporciones de los componentes de los mismos, añadiendo otros en su caso (como vainilla y lecitina de soya o sintética). ⁽²⁾

3.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA ⁽⁷⁾



Figura N° 1. Árbol de *Theobroma cacao*

El chocolate proviene del árbol de cacao o cacaotero, cuyo nombre científico es *Theobroma cacao* de la familia de las Esterculiáceas, como se muestra en la figura N° 1. Nativo de regiones húmedas tropicales del Norte de Sur América, sur de México y Centroamérica; está clasificado en tres grupos morfo geográficos: criollo, forastero y trinitario, que presentan una gran variabilidad en cuanto a color, dimensiones y forma.

El Árbol del cacao alcanza de 6 a 10 m de altura, aunque en cultivo se forma como arbusto de 2 ó 3 m de altura. Posee grandes hojas perennes y flores amarillas o rojizas siendo pequeñas que se desarrollan directamente en el tallo, se cultiva por sus granos; necesita humedad y calor y un clima húmedo, con

una temperatura entre los 20°C y los 30°C con una precipitación anual de 1,500-2,000 mm. Deben estar a la sombra, por lo cual normalmente se encuentran bajo árboles más grandes, palmeras o plataneras. Necesita de un suelo rico en nitrógeno y en potasio.

El fruto es una baya grande (mazorca), es elipsoidal, de unos 25 cm de largo por 15 cm de ancho de color pardo o rojizo cuando está maduro. Posee 5 prominencias longitudinales y contiene de 10 a 50 semillas aplanadas, de 2 a 4 cm de largo, y de ellas se prepara el chocolate.



Figura N° 2. Tipos de vaina de cacao

Hay dos tipos de cacao: uno es rojo y al madurar se transforman en morado y el otro es verde y cuando madura se torna amarillo como se observa en la figura N° 2. El cacao es una fruta tropical con la que se produce el chocolate y su recolección se hace dos veces al año; la segunda suele ser menos abundante que la primera.

3.3. FABRICACIÓN DEL CHOCOLATE⁽⁴⁾

3.3.1. La Recolección:

Los árboles de cacao florecen dos veces al año, siendo el principal periodo de floración en Junio y Julio. En los meses de Septiembre y Octubre tiene lugar una segunda floración pero más pequeña. El periodo de maduración de los frutos oscila entre los cuatro y los seis meses, según la altura sobre el nivel del mar y de la temperatura. Así la primera cosecha se concentra en los meses de Octubre, Noviembre y Diciembre, y la segunda durante Marzo y Abril.

La recolección es una de las fases más importantes, se debe hacer la identificación de las mazorcas maduras. Esta fase se conoce por los cambios de coloración externa, que varía dependiendo del tipo o variedad. Este cambio de color puede ser muy ligero y se corre con el riesgo de no cosechar a tiempo mazorcas que han alcanzado su plena madurez. Ante este importante detalle, muchos recolectores cosechan las mazorcas que se encuentran en las partes bajas del árbol, basados en el sonido que emiten estas cuando son golpeadas con los dedos. El punto óptimo de recolección se produce cuando las variedades de fruto rojo han tomado un color anaranjado-bermellón y los de fruta amarilla un color amarillo-verdoso.

La recolección puede ser semanal o algo más repartida según la disponibilidad de mano de obra. La recogida de los frutos se realiza manualmente mediante un cuchillo curvado unido a un palo que permite al operario recolectar los frutos de las ramas superiores. En la recolección del cacao es común aplicar un desinfectante en el extremo del pedicelo del fruto tras su recolección para evitar la transmisión mecánica de enfermedades a través de las herramientas de trabajo que puedan estar contaminadas.

Los frutos defectuosos, enfermos o agusanados se destruyen directamente en el campo y se entierran. Las mazorcas sanas se abren en el campo para extraer las semillas y trasladarlas al centro de procesado.

3.3.2. Tratamientos del fruto para la elaboración del chocolate.

- Al llegar la semilla a la fábrica recibe un tratamiento de limpieza, se filtran piedras, hojas o cualquier otro objeto extraño que puede haber.
- Una serie de molinos reduce las semillas a trozos llamados “nibs”.
- La cascarilla de las semillas, que se desecha para la fabricación del chocolate se desprende.
- Las semillas son tostadas entre 10° y 40°C durante un tiempo que puede variar entre 20 y 40 minutos. La duración y el grado de torrefacción depende del origen de los granos y el producto final deseado.
- Los nibs se colocan en molidoras y mediante el prensado se convierte en licor de cacao. A pesar de denominarlo licor, este no posee graduación alcohólica.
- El siguiente paso es la extracción de la manteca de cacao del licor.
- El licor se prensa con el fin de separar la pasta de la manteca de cacao. Ésta se obtiene de forma líquida.
- De esta forma se consigue un bloque de cacao prensado puro denominado pasta de cacao, que se utilizara en los siguientes pasos para la elaboración del chocolate.
- La mezcla pasa por unos rodillos superpuestos que eliminan los grumos y la refinan.
- Luego se pasa a las etapas de conchado y templado donde se elimina la humedad y los ácidos volátiles y se refina la mezcla final. Este proceso puede durar horas o días, según la calidad final que se quiera lograr.
- La mezcla se vierte en moldes que darán forma al producto final.

- Una maquina somete al chocolate a muy bajas temperaturas y lo deja listo para ser embalado. Esto puede hacerse de forma mecánica o manual. Con este paso final, el producto ya pasa a ser comercializado.

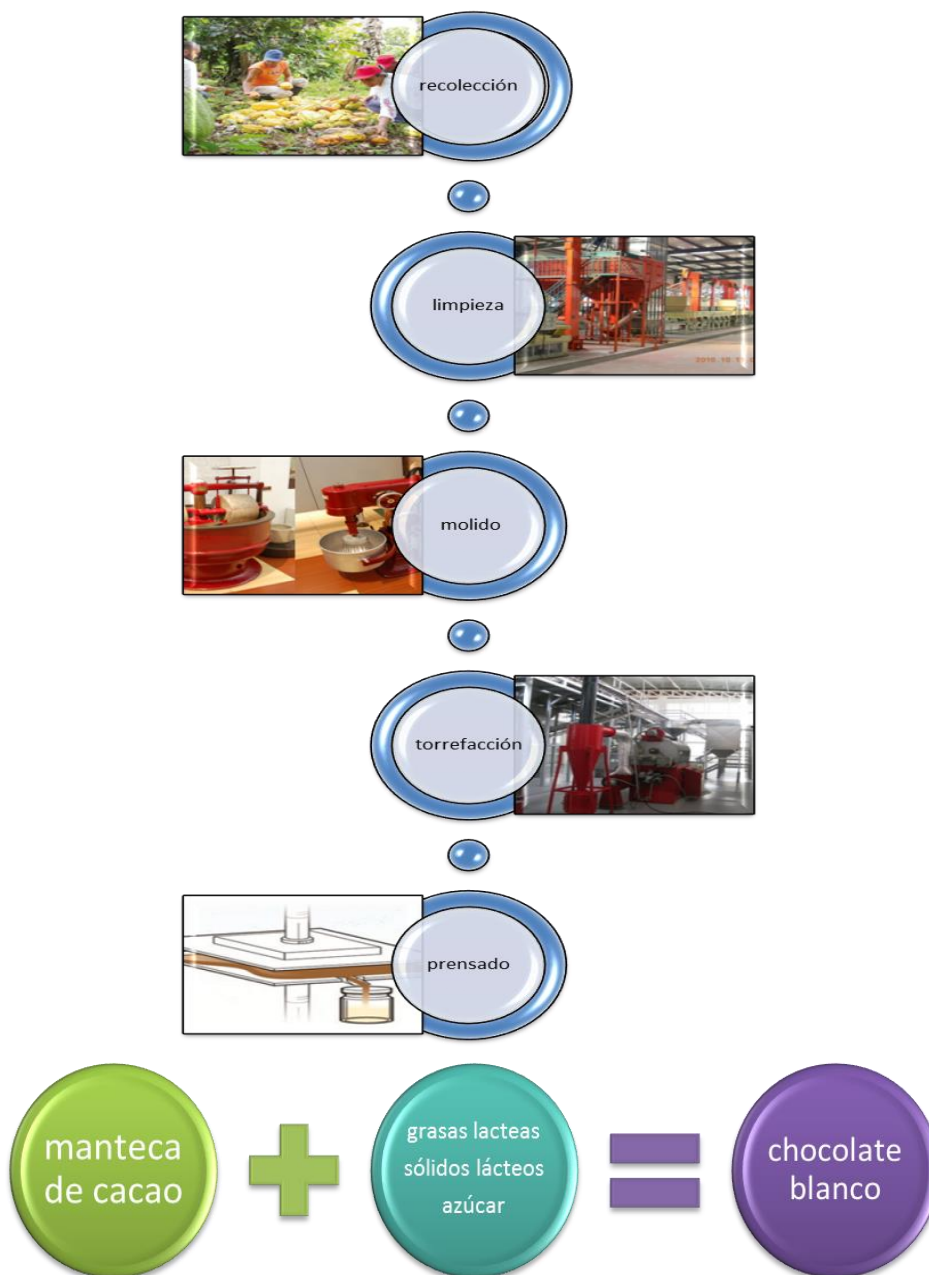


Figura N° 3. Esquema del tratamiento del fruto para la elaboración Del chocolate blanco.

3.4. COMPOSICIÓN DEL CHOCOLATE BLANCO ⁽⁴⁾

El chocolate blanco es un dulce formado por leche, manteca de cacao y azúcar. La manteca de cacao es una grasa de origen vegetal con un punto de fusión lo suficientemente elevado para mantenerla sólida a temperatura ambiente, lo cual sirve para poder fabricar el chocolate blanco; pero lo suficientemente bajo como para permitir que se pueda fundir en la boca. Por norma se compone de:

- 20% de manteca de cacao;
- 14% de sólidos lácteos;
- 3,5 % de grasa láctea; y
- No más de 55% de azúcar u otros edulcorantes.

Muy a menudo, la manteca de cacao es desodorizada para eliminar su sabor fuerte e indeseable que podría afectar negativamente el sabor del chocolate terminado.

El chocolate blanco puede ser difícil de trabajar. Cuando se funde, la manteca de cacao en ocasiones puede dividirse y crear un compuesto aceitoso que se puede recuperar re-emulsionándolo.

3.4.1. Manteca de cacao⁽⁸⁾

La manteca de cacao según la definición del Comité de Codex Alimentarium en Cacao y Productos de Chocolate: es la grasa producida de una o más de las siguientes fuentes: granos de cacao, licor de cacao (masa de cacao), torta de cacao y aquella extraída mediante procesos mecánicos y/o por la vía de solventes permitidos, de la torta o polvo de cacao fino.

El Comité del Codex Alimentarium también define varios tipos comerciales de manteca de cacao entre los que destacan:

- La manteca de cacao obtenida directamente de la almendra de cacao mediante prensa de tornillo. Esta grasa se caracteriza por su fuerte sabor y olor y su pronunciado color oscuro comparado con la manteca de cacao de primera. Para remediar este problema se refina antes de su uso mediante carbón activado u otros procedimientos previos. La manteca de cacao refinada está muy por encima de la manteca de cacao normal, porque ha sido tratada para eliminar impurezas, olores indeseables, el sabor y olor.
- La manteca obtenida por prensado del licor de cacao.
- La extraída de manera directa de los granos de cacao íntegros (con cáscara) mediante prensado y molienda.
- La manteca de cacao extraída mediante solventes químicos, generalmente el hexano a partir del licor de cacao y de la torta o del polvo fino de cacao. Esta última no es considerada como manteca de cacao de primera. Para la elaboración de chocolate no se ha desarrollado ningún procedimiento completamente uniforme, admitido para todas las empresas. Muchas de las tecnologías de elaboración se encuentran en un estado empírico. Sin embargo, existen rangos operativos comunes y básicos compartidos por las empresas molineras de cacao y de manufactura de chocolate.
- La manteca de cacao existe en una proporción cercana al 50% en las granas de cacao. Los procesos industriales que emiten calor a la masa de cacao funden esta manteca y las operaciones de prensado lo extraen, separando el cacao puro de su manteca. La manteca consiste en un triéster de glicerol formado por ácidos grasos, entre ellos los más comunes son el palmítico (P), esteárico (St) y el ácido oléico (O). Todos ellos forman triglicéridos, siendo los tres más habituales el *1,3-dipalmitoil-2-oleoil-glicerol* (POP), el *1-palmitoil-2-oleoil-3-estearoil-glicerol* (POS), y el *1,3-estearoil-2-oleoil-glicerol* (SOS). ⁽¹⁰⁾

En algunos países se reglamenta el uso de sucedáneos de manteca de cacao, estos suelen ser grasas de origen lácteo (mantequillas), o grasas vegetales (se denominan en la industria chocolatera como Cocoa Butter Equivalent - CBE).

Los reglamentos alimentarios obligan a la existencia de manteca de cacao para ser denominado un producto como chocolate, mientras que las otras dos grasas son opcionales.

Los sucedáneos de grasa son sustancias que poseen propiedades organolépticas similares (generalmente textura y sabor) a las grasas comestibles. Algunas de estas sustancias poseen una densidad calórica similar a las grasas (9 cal/gramo) y es por esta razón por la que deben emplearse en pequeñas cantidades, mientras que otros poseen una menor densidad calórica. Suelen emplearse en la cocina, así como en ciertas industrias alimentarias (un ejemplo es en la industria del chocolate).

3.4.2. Grasas Lácteas ⁽¹⁰⁾

La grasa láctea ha sido históricamente una de las fuentes de grasa de mayor consumo a nivel mundial. Sin embargo, en consideración a su contenido de ácidos grasos saturados y colesterol, como factores de riesgo de la salud cardiovascular en la población humana, se le ha castigado observándose una tendencia a la disminución de su consumo, en especial en la última década. En particular, la grasa láctea contiene una sustancial concentración de colesterol y de Ácido Mirístico (C14:0), Palmítico (C16:0) y Esteárico (C18:0). A su vez, presenta una relativamente baja concentración de ácidos grasos monoinsaturados y de ácidos grasos poliinsaturados. De los cuales sólo C14:0 y C16:0, serían promotores de la síntesis de colesterol en individuos susceptibles.

3.4.3. Azúcares

Los azúcares, que se presentan en estructura cristalina, son el tercer sólido añadido al chocolate. Suele ser una mezcla de sucrosa (denominada también sacarosa), fructosa y glucosa. El chocolate contiene lactosa (azúcar procedente de la leche de vaca). Los fabricantes de chocolate emplean azúcares que

poseen granos de tamaño medio de un milímetro (tamaño medio) hasta 0.1 milímetro (tamaño fino). Durante la fase de molido de la masa de cacao se mezclan todos los componentes. Por regla general la emulsión de azúcar y el polvo de cacao es lo que proporciona ese sabor dulce que caracteriza el "sabor a chocolate" de algunas preparaciones reposteras. El empleo de azúcares amorfos afecta a las propiedades aromáticas del chocolate. Los azúcares añadidos deben ser previamente pulverizados a tamaños tan pequeños como los granos de cacao, llegando a tamaños de micras.

3.5. LÍPIDOS ⁽¹²⁾

Los lípidos son compuestos de origen biológico que se disuelven en disolventes no polares como el cloroformo o el dietil éter. El nombre lípido viene de la palabra griega lipos, que significa grasa, los lípidos incluyen dos categorías: lípidos saponificables y lípidos insaponificables.

Lípidos insaponificables: Son los lípidos que no poseen ácidos grasos en su estructura y no producen reacciones de saponificación. Entre los lípidos insaponificables encontramos a: Terpenos, Esteroides y Prostaglandinas. ⁽¹²⁾

Dentro de las grasas saponificables tenemos:

A. Ácidos grasos y triacilgliceroles ⁽¹¹⁾

Solo una parte muy pequeña de la fracción total de lípidos está constituida por ácidos carboxílicos de cadena larga. La mayoría de los ácidos carboxílicos de origen biológico se encuentran como ésteres de glicerol, es decir como triacilgliceroles.

Los triacilgliceroles son grasas y aceites de origen animal y vegetal; incluyen sustancias tan comunes como los aceites de cacahuates, soya, maíz y girasol; la mantequilla, la manteca de cerdo y el cebo. Por lo general, los triacilgliceroles que son líquidos a temperatura ambiente se llaman aceites; los que son sólidos

se denominan grasas. Los triacilgliceroles pueden ser simples, es decir, poseen 3 grupos acilo iguales sin embargo, es más común que sean triacilgliceroles mixtos los cuales cuentan con grupos acilos diferentes.

Los ácidos grasos son los componentes característicos de muchos lípidos y rara vez se encuentran libres en las células. Son moléculas formadas por una larga cadena hidrocarbonada de tipo lineal, y con un número par de átomos de carbono. Tienen en un extremo de la cadena un grupo carboxilo (-COOH).

Los ácidos grasos se pueden clasificar en dos grupos:

Los **ácidos grasos saturados**: sólo tienen enlaces simples entre los átomos de carbono. Son ejemplos de este tipo de ácidos el palmítico (16 átomos de C) y el esteárico (18 átomos de C) suelen ser SÓLIDOS a temperatura ambiente.

Los **ácidos grasos insaturados**: tienen uno o varios enlaces dobles. Son ejemplos el oléico (18 átomos de C y un doble y dos dobles enlaces) suelen ser LÍQUIDOS a temperatura ambiente.

3.6. GRASAS TRANS ⁽¹¹⁾

Son hidrocarburos insaturados con isomería geométrica en función trans; el término trans resulta cuando dos átomos o dos grupos de átomos están en lados opuestos del plano como se muestra en la Figura N°4.

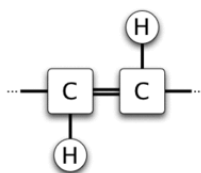


Figura N°4. Representación de la isomería Trans

La grasa trans aparece como resultado de la saturación de los dobles enlaces en algunos aceites vegetales, un proceso químico llamado hidrogenación.

Concretamente, este proceso consiste en inyectar hidrógeno a los ácidos grasos poliinsaturados de los aceites de semillas como el de girasol o el de soja, obteniendo así lo que se conoce como grasas hidrogenadas o parcialmente hidrogenadas. Lo que en realidad sucede es que parte de las grasas poliinsaturadas se transforman en grasas saturadas.

De esta forma se modifica el aspecto físico de los aceites, que pasan de líquido a estado sólido. En el momento en que la configuración de la grasa se ve modificada es cuando se habla de grasas trans. Por tanto, no todas las grasas hidrogenadas las contienen. En esta transformación, los aceites vegetales se enriquecen en grasas saturadas, que consumidas en exceso pueden provocar graves consecuencias para la salud.

Cuando se habla de dieta, muchas veces el término grasa se utiliza como un sustituto del término triacilglicerol. Así, una grasa en la dieta puede ser ya sea una "grasa" o un "aceite". Los estudios en curso indican que tanto el tipo y la cantidad de grasa consumida en la dieta son factores importantes en la determinación de las respuestas del cuerpo humano.

Ácidos Grasos Trans: A los efectos de las Directrices del Codex sobre Etiquetado Nutricional y otras normas y directrices afines del Codex, se define como ácidos grasos trans a todos los isómeros geométricos de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados que poseen en la configuración trans dobles enlaces carbono-carbono no conjugados.

La información nutricional complementaria tiene por objeto facilitar la comprensión del consumidor del valor nutritivo de su alimento y ayudarle a

interpretar la declaración sobre el nutriente. Hay varias maneras de presentar dicha información que pueden utilizarse en las etiquetas de los alimentos.

Por etiquetado nutricional se entiende toda descripción destinada informar al consumidor sobre las propiedades nutricionales de un alimento.

El etiquetado nutricional comprende dos componentes:

- a) La declaración de nutrientes
- b) La información nutricional complementaria.

Por declaración de propiedades nutricionales se entiende: cualquier representación que afirme, sugiera o implique que un producto posee propiedades nutricionales particulares, especialmente, pero no sólo, en relación con su valor energético y contenido de proteínas, grasas y carbohidratos, así como con su contenido de vitaminas y minerales.

La información sobre la cantidad de proteínas, carbohidratos y grasas que contienen los alimentos deberá expresarse en g por 100 g o por 100 ml o por envase, si éste contiene sólo una porción. Además, esta información podrá darse por ración cuantificada en la etiqueta, o por porción, si se declara el número de porciones que contiene el envase.

Cuando se declaren la cantidad y/o el tipo de ácidos grasos, esta declaración deberá seguir inmediatamente a la declaración del contenido total de grasas, de conformidad con la Cuadro N° 1.⁽⁵⁾

Cuadro No. 1 Declaración del contenido total de grasas. ⁽⁶⁾

Contenido total de grasa		...	g
de las cuales	ácidos grasos saturados	...	g
	ácidos grasos – trans	...	g
	ácidos grasos monoinsaturados	...	g
	ácidos grasos poliinsaturados	...	g
Cholesterol		...	mg

3.7. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA ⁽⁹⁾

La espectroscopia vibracional fue una de las primeras técnicas espectroscópicas que encontró un uso extendido, en particular la espectroscopia de absorción infrarroja (IR) que recibe su nombre de la región del espectro electromagnético implicada. Por lo tanto podemos decir que espectroscopia infrarroja es la medición de la radiación infrarroja absorbida por una muestra. La región IR del espectro electromagnético se encuentra entre 12800 a los 10 cm^{-1} . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de los aparatos se puede dividir en tres zonas:

- IR Cercano (NIR): 12800-4000 cm^{-1}
- IR Intermedio: 4000-400 cm^{-1}
- IR Lejano: 400-10 cm^{-1}

Es en la región del infrarrojo intermedio donde se dan la mayoría de las aplicaciones analíticas tradicionales. Una de las grandes ventajas de la espectroscopia IR es su versatilidad, ya que permite estudiar prácticamente cualquier muestra con independencia del estado en que se encuentre: líquidos, disoluciones, pastas, polvos, fibras, films, gases o superficies son algunos ejemplos.

Un espectro IR se obtiene al pasar radiación a través de una muestra y determinar que fracción de esta radiación incidente ha sido absorbida. La

energía particular a la que aparece cada pico en un espectro guarda relación con la frecuencia de vibración de una parte de la molécula.

Como en otros procesos de absorción de radiación electromagnética, la interacción de la radiación infrarroja con la materia provoca en ésta alguna alteración. El espectro vibracional de una molécula se considera una propiedad física única y por tanto característica de ésta molécula. Así, entre otras aplicaciones, el espectro IR se puede usar como “huella dactilar” en la identificación de muestras desconocidas mediante la comparación con espectros de referencia.

3.7.1. INSTRUMENTACIÓN ⁽⁹⁾

Los espectrofotómetros IR tienen los mismos componentes básicos que el resto de aparatos utilizados en procesos de absorción, por ejemplo en el estudio de la zona visible-ultravioleta del espectro.

Básicamente, se necesita un instrumento para medir la transmisión de radiación electromagnética de una muestra en función de la longitud de onda o del número de ondas. El elemento más importante debe permitir aislar la radiación de regiones espectrales definidas y permite diferenciar entre los distintos tipos de espectrofotómetros: no dispersivos, dispersivos y de transformada de Fourier (FT). En estos últimos se utiliza un interferómetro que permite una modulación de la radiación dependiente de la longitud de onda.

A continuación en la Figura N°5 se esquematiza un instrumento de transformada de Fourier.

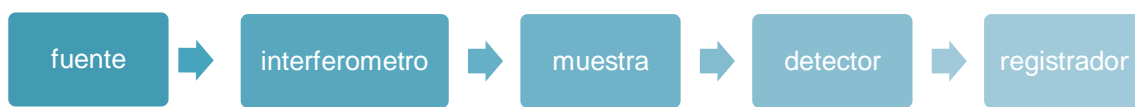


Figura N°5 Esquema de un instrumento de Transformada de Fourier

La FAO y la OMS (1994) recomendaron que se tuviera amplio acceso a los datos apropiados de composición de alimentos referidos a las grasas y que en los análisis sobre el contenido de ácidos grasos de los alimentos y en la elaboración de bases de datos de nutrientes se emplearan métodos normalizados y materiales de referencia. El informe ofrece una buena cobertura de las sustancias y las cuestiones nutricionales de interés es una referencia fundamental para el análisis de los lípidos.

3.7.1.1. Ácidos grasos

El método preferible para el análisis es la separación por GLC de los ésteres de metilo de los ácidos grasos preparados por transmetilación de los extractos lipídicos de los alimentos. La preparación de materiales de relleno de la columna, técnicas capilares y sistemas de amplificación de los detectores ha permitido hacer más general la aplicación del método para la separación de formas isotópicas y ácidos grasos de cadena más larga. La técnica publicada por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (UIQPA) (Paquot y Hautfenne, 1987) constituye el procedimiento básico.

El método exacto que se elija dependerá del alimento que se vaya a analizar y de los ácidos grasos de particular interés. Muchos usuarios están especialmente interesados en los ácidos grasos n-3 y n-6, los ácidos *trans* y los niveles de ácidos grasos de cadena larga.

Los detectores de infrarrojos son útiles en la medición de los ácidos grasos *trans* (AOA International, 2002). La principal dificultad radica en la asignación de una identidad inequívoca a los isómeros. Para esto se requieren buenos patrones o la combinación de la separación mediante GLC con la espectrometría de masas (Beare-Rogers y Dieffenbacher, 1990), lo cual puede resultar poco práctico para algunos países en desarrollo.

La absorción infrarroja es en la actualidad el método preferido para la medición de los ácidos grasos *trans* en los aceites de pescado hidrogenados.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1. TIPO DE ESTUDIO

- Estudio Experimental: Son los más utilizados en el campo de las ciencias naturales. Se analiza el efecto producido por la acción o manipulación de una o más variables independientes sobre una o varias dependientes. El estudio se realizó en el Laboratorio de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador para el análisis de diferentes presentaciones de chocolate blanco con el objetivo de identificar la presencia de grasas trans, comparando cada muestra con el espectro patrón de grasas trans, tomando en cuenta el pico de absorción del espectro infrarrojo en el cuál aparecen este tipo de compuestos.
- Estudio Transversal: Es un tipo de estudio que se realizó en un tiempo determinado, recolectando y analizando las muestras, realizándolo en el período de Junio - Agosto 2013.
- Estudio Prospectivo: Ya que se deja un antecedente que servirá para posteriores trabajos.

4.2. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Se realizó en las siguientes bibliotecas:

- Biblioteca "Dr. Benjamín Orozco" de la Facultad de Química y Farmacia.
- Biblioteca "P. Florentino Idoate, S.J." de la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.
- Internet.

4.3. INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Se elaboró una guía de observación (Ver Anexo N° 2) con el fin de delimitar el Universo, conociendo así las distintas presentaciones y marcas existentes de chocolate blanco en el mercado.

Se determinó a través de ésta guía de observación que en los cuatro establecimientos seleccionados se encuentra chocolate blanco de igual marca y presentación y se encontraron marcas que se comercializan específicamente en algunos de establecimientos pero que poseen igual demanda por la población. Por lo que se consideró importante tomarlas en cuenta para la investigación.

La información recolectada durante la recolección y selección de muestras se presenta en las siguientes tablas N° 1, 2, 3 y 4. Se seleccionaron así las marcas Shaw's, Hershey's, Garoto, Sanborn's y Azulejo, las cuáles fueron recolectadas en establecimientos seleccionados (Súper Selectos, Siman, Sanborn's y Shaw's), ubicados en el Centro Comercial Metrocentro San Salvador.

Tabla N°1 Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Súper Selectos décima etapa, Metrocentro

Establecimiento	Marca	Presentación
Súper selectos	Garoto	Relleno
		Tablilla con cereal crocante
	Hershey's	Tablilla con galleta
		Empaque individual

Tabla N°2 Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Simán cuarta etapa, Metrocentro

Establecimiento	Marca	Presentación
Simán	Garoto	Relleno
	Hershey's	Tablilla con galleta
		Empaque individual
Shaw's	Figuras de chocolate blanco	

Tabla N°3 Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Sanborns octava etapa, Metrocentro

Establecimiento	Marca	Presentación
Sanborn's	Azulejo	Tablilla chocolate macizo
	Hershey's	Tablilla con galleta
		Empaque individual
	Sanborn's	Figuras de chocolate blanco

Tabla N°4 Marcas y presentaciones de chocolate blanco comercializados en Shaw's cuarta etapa, Metrocentro

Establecimiento	Marca	Presentación
Shaw's	Shaw's	Chocolate con semillas de marañón y almendra
		Figuras de chocolate macizo

- UNIVERSO: Cinco marcas de Chocolate Blanco (Shaw's, Hershey's, Garoto, Sanborn's y Azulejo).

- MUESTRA: El tamaño de la muestra se obtuvo haciendo uso de un diseño factorial para determinar el número de muestras que serían utilizadas en el análisis de las cinco marcas de chocolate blanco y sus presentaciones.

Por medio de un diseño factorial 2^5 , que permitió el estudio del efecto de cada factor (5 marcas de chocolate blanco) sobre la variable de respuesta (ausencia o presencia) obteniendo así 32 ejecuciones (64 determinaciones tomando en cuenta que se hicieron por duplicado). El diseño fue ejecutado en un solo bloque. El orden de los experimentos no fue aleatorizado en el diseño pero si en la ejecución de las determinaciones, analizando las muestras sin observar marca o procedencia. Para posteriormente analizar los espectros obtenidos de cada muestra y compararlos con una mezcla como patrón positivo.

4.4. PARTE EXPERIMENTAL

4.4.1 ADQUISICIÓN Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA

Se recolectó las muestras en los diferentes establecimientos (Súper Selectos, Sanborn's, Siman y Shaw's) localizados en el área de metrocentro San Salvador y se identificaron por medio de la siguiente etiqueta:

MARCA:
LOTE:
PRESENTACIÓN:
FECHA DE VENCIMIENTO:
ESTABLECIMIENTO:

Figura N°6 Etiqueta utilizada para la identificación en la toma de muestras.

Estas muestras fueron transportadas desde los establecimientos hasta el Laboratorio Físicoquímico de Aguas en un depósito hermético para conservar sus características organolépticas.

4.4.2. MÉTODO DE ANÁLISIS

Se utilizó una marcha analítica para el procedimiento experimental basada en la adecuación del método de espectroscopía infrarroja en la identificación de grasas trans (Anexo N°3). ⁽³⁾

4.4.3. DESARROLLO ANALÍTICO

A. MATERIAL Y EQUIPO

- Micropipetas
- Termómetro
- Tubo de boca ancha de 50 mL
- Vidrio de reloj
- Goteros
- Espátulas
- Celda de Bromuro de potasio (KBr)
- Baño de María Precitherm PFV
- Equipo de Espectrofotometría Infrarroja Shimadzu IR-Affinity

B. REACTIVOS

- Estándar: Manteca de cacao
- Estándar de Trabajo Trielaidina + Manteca de Cacao

C. PROCEDIMIENTO ⁽¹⁾

Parte I: Análisis de Muestras de Chocolate Blanco.

1. Encender el espectrofotómetro IR y la computadora

2. Inicializar el programa IR-Solution
3. Conectar el computador por medio del programa con el espectrofotómetro IR utilizando el comando "**Measure**", comando "**Admin**", Inicializar. Dejar un tiempo de equilibrio de 15 minutos.
4. Permitir que el programa registre las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.
5. Dejar correr un barrido de las condiciones iniciales del equipo con la unidad ATR armada sin muestra como sigue: utilizar el comando "**Measure**", y presionar "**BKG**" para obtener el espectro blanco (Background).
6. Tomar una cantidad de la muestra desde su empaque primario con una espátula y colocar en un tubo de boca ancha de 50 mL.
7. Tratar la muestra de la siguiente manera: Colocar el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra en un baño de maría Precitherm y controlar con un termómetro que la temperatura se encuentre a $62^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, hasta la fundición y separación de las fases.
8. Tomar una pequeña cantidad de muestra fundida con una pipeta o un gotero.
9. Colocar la muestra distribuida uniformemente en el cristal de la celda y acoplarla en la unidad ATR del equipo Infrarrojo Shimadzu IR-Affinity.
10. Analizar la muestra presionando el comando el comando "**Measure**", coleccionar la información de la muestra en el espacio "**coment**" y presionar en "**Sample**" para obtener el espectro correspondiente para identificar la muestra de los 4000 a los 500 cm^{-1} .
11. Limpiar la celda con un pañuelo suave y luego con un algodón impregnado de alcohol.
12. Comparar los espectros obtenidos con la Mezcla (estándar de Trielaidina + Manteca de Cacao).
13. Observar si existe la presencia de la deformación del enlace $\text{C}=\text{C}$ del isómero Trans que aparece cercano a los 966 cm^{-1} .

14. Comparar los resultados obtenidos, buscando en la base de datos de la computadora el espectro correspondiente a la Mezcla.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

A continuación se exponen los objetivos específicos que fueron planteados al inicio del estudio y seguido a este su cumplimiento y la correspondiente discusión de los resultados obtenidos.

5.1 Realizar la toma de muestras de chocolate blanco en base a la guía de observación en establecimientos seleccionados ubicados dentro del centro comercial Metrocentro San Salvador.

La toma de muestras de chocolate blanco se realizó en base a la información obtenida a través de la guía de observación (Ver Anexo N°2).

Posteriormente, las muestras fueron recolectadas tomando en cuenta las condiciones necesarias para mantenerlas en óptimo estado, conservando así sus propiedades organolépticas durante el traslado, considerando que la temperatura es un factor de gran incidencia, las muestras fueron recolectadas durante la mañana, haciendo uso de un contenedor hermético, el cual permitió el traslado de las muestras desde los establecimientos hasta el Laboratorio de análisis Físico químico de Aguas de la Universidad de El Salvador.

Una vez teniendo las muestras en el laboratorio se asignó un código a cada muestra de acuerdo al establecimiento, haciendo referencia a las primeras tres letras de su nombre, seguido por un número correlativo de acuerdo a la cantidad de muestras que fueron recolectadas (Ver anexo N°6), ésta información puede observarse en la tabla N° 5.

Tabla N°5 Asignación de Código a muestras de Chocolate Blanco según su procedencia.

Establecimiento	Marca	Presentación	Código
Súper selectos	Garoto	Tablilla con cereal crocante (Talento)	Sel01
		Relleno (Mundy)	Sel02
	Hershey's	Empaque individual (Bliss)	Sel03
		Tablilla con galleta (Cookies 'n' creme)	Sel04
Simán	Hershey's	Empaque individual (Bliss)	Sim01
		Tablilla con galleta (Cookies 'n' creme)	Sim02
	Garoto	Tablilla con cereal crocante (Talento)	Sim03
		Relleno (Mundy)	Sim04
	Shaw's	Figuras de chocolate macizo	Sim05
		Chocolate con semillas de marañón y almendra	Sim06

Tabla N°5 Continuación

Establecimiento	Marca	Presentación	Código
Shaw's	Shaw's	Chocolate con semillas de marañón y almendra	Sha01
		Figuras de chocolate macizo	Sha02
Sanborn's	Hershey's	Empaque individual (Bliss)	San01
		Tablilla con galleta (Cookies 'n' creme)	San02
	Garoto	Tablilla con cereal crocante (Talento)	San03
		Relleno (Mundy)	San04
	Azulejo	Tablilla de chocolate macizo	San05
	Sanborn's	Figuras de chocolate macizo	San06

El cálculo del porcentaje de cada una de las marcas analizadas relacionada al total de las 32 muestras recolectadas, se realizó dividiendo el número de muestras analizadas por marca entre las 32 muestras recolectadas de chocolate blanco y así poder obtener un aproximado en porcentaje de las muestras por marca que se analizarían, como se refleja en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de marca analizada} = \frac{\# \text{ de muestras por marca}}{\text{Muestras recolectadas}} \times 100_{(3)}$$

En donde:

Muestras recolectadas: 32

Muestras analizadas por cada marca:

Porcentaje en representación para marcas de chocolate blanco: Hershey's, Garoto y Azulejo

$$\% \text{ de marca analizada} = \frac{6}{32} \times 100$$

$$\% \text{ de marca analizada} = 18.75$$

Porcentaje en representación para marcas de chocolate blanco: Shaw's y Sanborns.

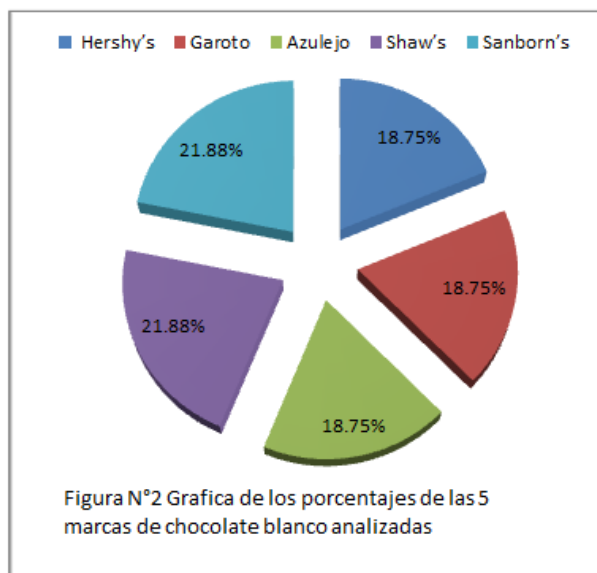
$$\% \text{ de marca analizada} = \frac{7}{32} \times 100$$

$$\% \text{ de marca analizada} = 21.88$$

En la Tabla N° 6 se resume el porcentaje correspondiente a cada marca de chocolate blanco con respecto a las 32 muestras analizadas y la cantidad de muestras recolectadas por presentación.

Tabla N° 6 Marcas de chocolate blanco con sus porcentajes correspondientes y su presentación

Marca	Presentación	Cantidad	Porcentaje
Hershy's	Bliss	3	18.75%
	Cookies 'n' creme	3	
Garoto	Mundi	3	18.75%
	Talento	3	
Azulejo	Tablilla	6	18.75%
Shaw's	Figura	7	21.88%
Sanborn's	Figuras	7	21.88%
Total	-	-	100%



5.2 Analizar las diferentes muestras recolectadas por medio del método de espectroscopía infrarroja transformada de Fourier.

Una vez recolectadas y codificadas las muestras, se analizaron siguiendo la marcha analítica (Ver anexo N°4). (3)

Se pesó en una balanza analítica una cantidad necesaria de muestra que correspondía a aproximadamente 2.0g de chocolate blanco (ver anexo N°4), ésta fue posteriormente colocada en un tubo de ensayo boca ancha que se encontraba dentro de un Baño de María Precitherm PFV (ver anexo N°4), de manera que ésta pudiera ser fundida y facilitar de esta forma el vertido suficiente para rellenar la Celda de Bromuro de potasio (KBr).

Luego, la celda se introdujo al Equipo de Espectrofotometría Infrarroja Shimadzu IR-Affinity (Ver anexo N°8 y N°9), igual procedimiento se llevó a cabo para cada una de las muestras analizadas.

Una vez obtenido el espectro se procedió a identificar las señales de los grupos funcionales ya que la manteca de cacao consiste en una mezcla de un triéster de glicerol formado por ácidos grasos, entre ellos los más comunes son el palmítico (P), esteárico (St) y el ácido oléico (O). Todos ellos forman triglicéridos, siendo los tres más habituales el 1,3-dipalmitoil-2-oleoil-glicerol (POP), el 1-palmitoil-2-oleoil-3-estearoil-glicerol (POS), y el 1,3-estearoil-2-oleoil-glicerol (SOS).⁽⁴⁾

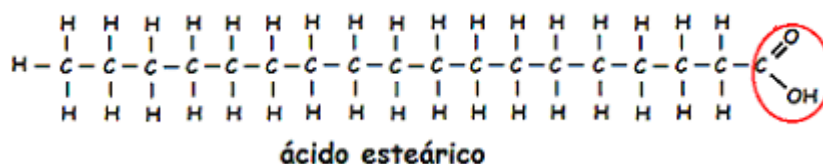


Figura N°7. Fórmula estructural del ácido esteárico

Como se puede observar en la figura N° 7 el ácido esteárico posee diferentes grupos funcionales, y por lo tanto el espectro debe de tener las señales más características; ya que, no solo de ello está compuesto el chocolate blanco pero si utilizamos de ejemplo el ácido esteárico las señales que debemos observar serian el enlace C=O que aparece en el espectro entre 1690-1760 dentro del espectro de la manteca.⁽⁶⁾

También la señal más amplia que esta entre 2800 y 3000 cm^{-1} se debe a las vibraciones de tensión de C-H que se deben observar en el espectro de la Manteca de Cacao como se puede ver en la Figura N°8.

Además ya que son mezclas de triglicéridos y otros componentes (aunque en minoría porque se pierden en el proceso de la extracción de la Manteca de Cacao) tienden a aparecer en el espectro, sin embargo en este estudio lo que se busca es encontrar una posible aparición de la deformación del enlace C=C del isómero trans.

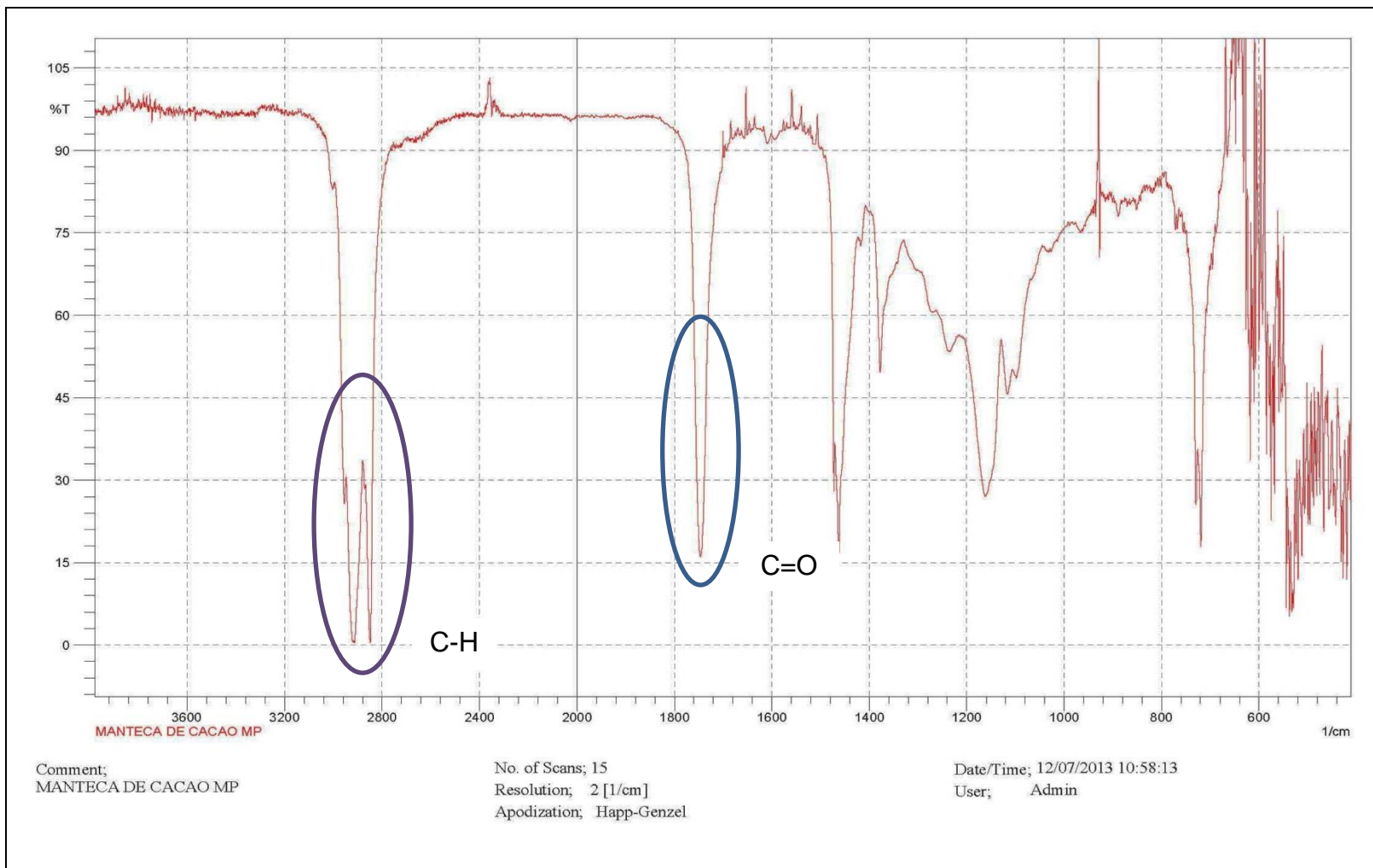


Figura N°8. Espectro de la Mantecca de Cacao que contiene las señales características del Ácido Esteárico; enlace C=O que aparece en el espectro entre 1690-1760, señal más amplia que esta entre 2800 y 3000 cm^{-1} se debe a las vibraciones de tensión de C-H.

5.3 Interpretar por medio de los espectros obtenidos, la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero trans.

Se buscó observar en la región cercana a los 966cm^{-1} del espectro infrarrojo la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero trans en el momento de obtener los resultados para calificarlos como positivos o negativos. La información recabada correspondiente a las 5 marcas de chocolate blanco se presenta en la Tabla N°7.

Tabla N°7. Resultados de las muestras de Chocolate Blanco recolectadas

Establecimiento	Marca	Presentación	Código	Resultado
Súper Selectos	Garoto	Tablilla con cereal crocante (Talento)	Sel01	Negativo
		Relleno (Mundy)	Sel02	Negativo
	Hershey's	Empaque individual (Bliss)	Sel03	Negativo
		Tablilla con galleta (Cookies 'n' creme)	Sel04	Negativo
Simán	Hershey's	Empaque individual (Bliss)	Sim01	Negativo
		Tablilla con galleta (Cookies 'n' creme)	Sim02	Negativo
	Garoto	Tablilla con cereal crocante (Talento)	Sim03	Negativo
		Relleno (Mundy)	Sim04	Negativo
	Shaw's	Figuras de chocolate macizo	Sim05	Negativo
		Chocolate con semillas de marañón y almendra	Sim06	Negativo

Tabla N°7 Continuación

Establecimiento	Marca	Presentación	Código	Resultado
Shaw's	Shaw's	Chocolate con semillas de marañón y almendra	Sha01	Negativo
			Sha01.1	Negativo
			Sha01.1	Negativo
		Figuras de chocolate macizo	Sha02	Negativo
			Sha02.1	Negativo
Sanborn's	Hershey's	Empaque individual (Bliss)	San01	Negativo
		Tablilla con galleta (Cookies 'n' creme)	San02	Negativo
	Garoto	Tablilla con cereal crocante (Talento)	San03	Negativo
		Relleno (Mundy)	San04	Negativo
	Azulejo	Tablilla de chocolate macizo	San05	Negativo
			San05.1	Negativo
			San05.2	Negativo
			San05.3	Negativo
			San05.4	Negativo
			San05.5	Negativo
San06.1			Negativo	
San06.2			Negativo	

Tabla N°7 Continuación

Establecimiento	Marca	Presentación	Código	Resultado
Sanborn's	Sanborn's	Figuras de chocolate macizo	San06	Negativo
			San06.1	Negativo
			San06.2	Negativo
			San06.3	Negativo
			San06.4	Negativo
			San06.5	Negativo
			San06.6	Negativo

5.4. Comparar los espectros obtenidos con una mezcla como estándar positivo.

Se obtuvieron 64 espectros mediante el análisis de las 32 muestras recolectadas de las 5 marcas diferentes muestreadas, de éstos se seleccionaron los espectros más representativos de cada marca para ser comparados con el espectro obtenido de la mezcla de manteca de cacao con Trielaidina 99%, el cual fue usado como “estándar positivo” y como se puede observar en las Figura N°9, 10 y 11 se presentan los espectros obtenidos del estándar positivo, la mezcla utilizada y los respectivos acoplamientos, además de un acercamiento a la zona de interés para el análisis a 966 cm^{-1} , en la cual se observa la presencia positiva de la deformación del enlace C=C, lo que confirma la presencia de grasas trans en la mezcla utilizada, además se presenta en la Figura N°12 un acoplamiento que corresponde a la mezcla junto con la Manteca de cacao como materia prima, la cual como puede observarse no presenta la señal correspondiente al isómero trans.

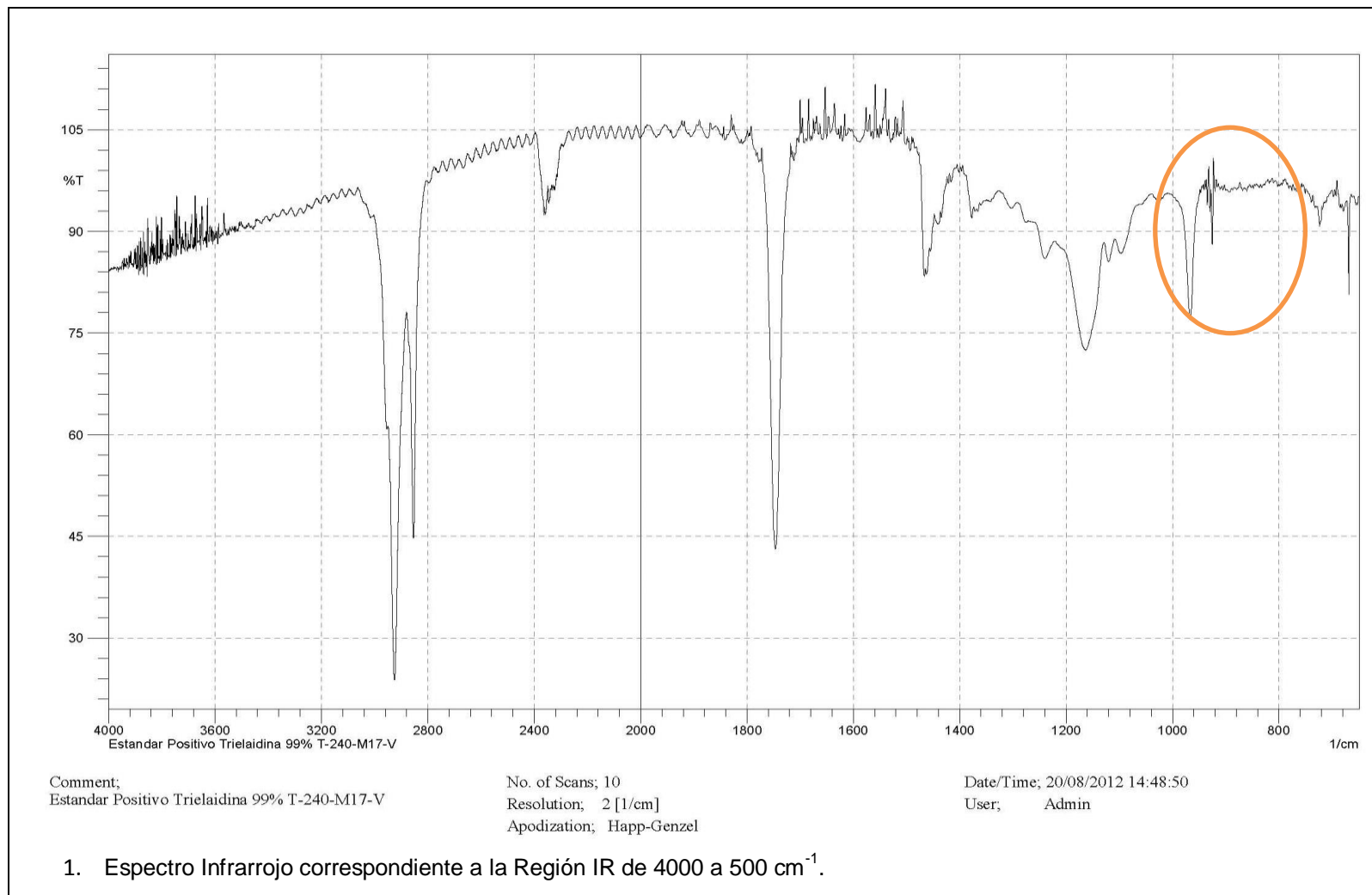


Figura N°9. Espectro de Trielaidina 99% utilizado como estándar positivo.

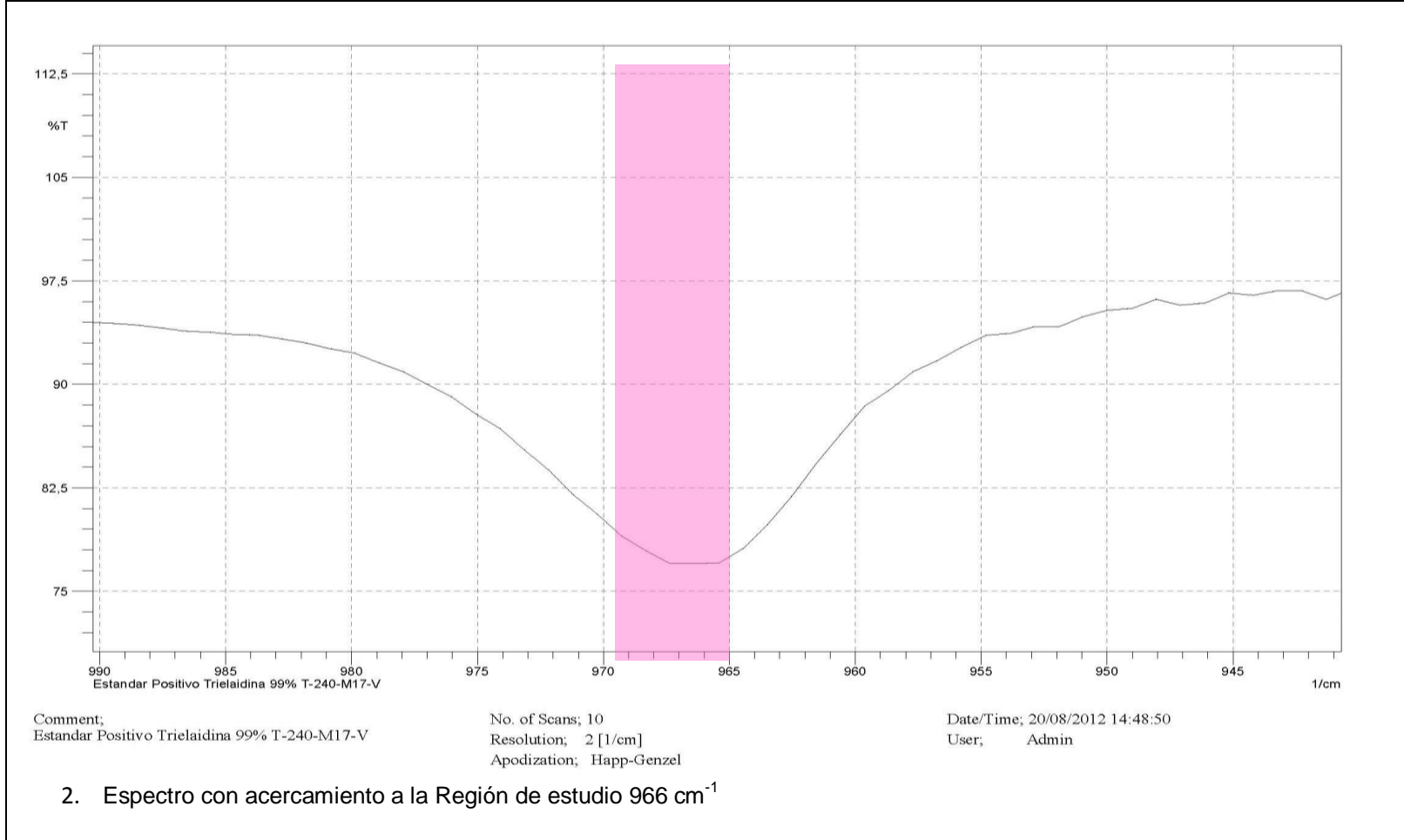
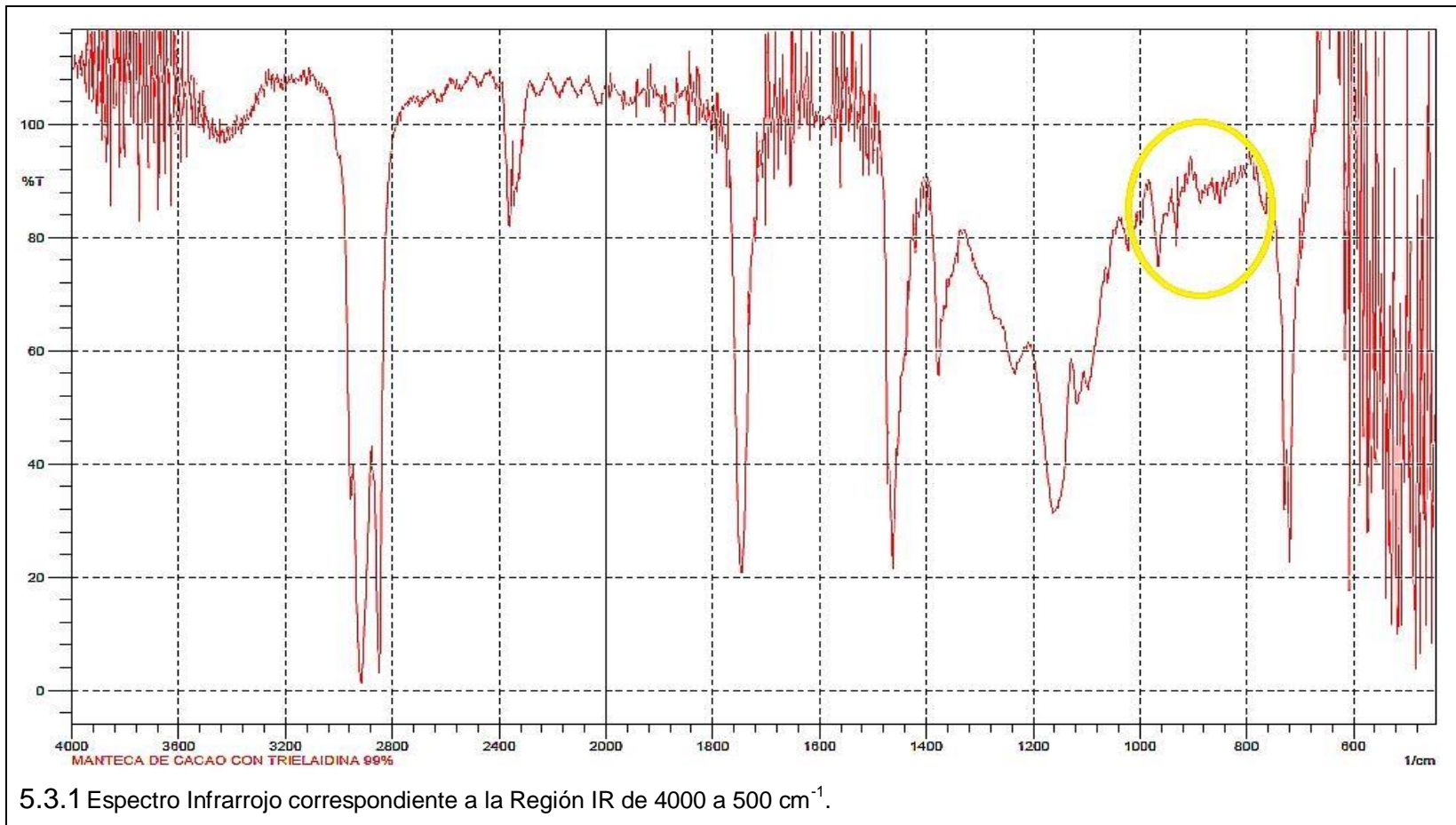


Figura N° 9. Continuación



5.3.1 Espectro Infrarrojo correspondiente a la Región IR de 4000 a 500 cm⁻¹.

Figura N°10. Espectro obtenido de la mezcla de Manteca de Cacao con Trielaidina 99% utilizado como estándar de Trabajo.

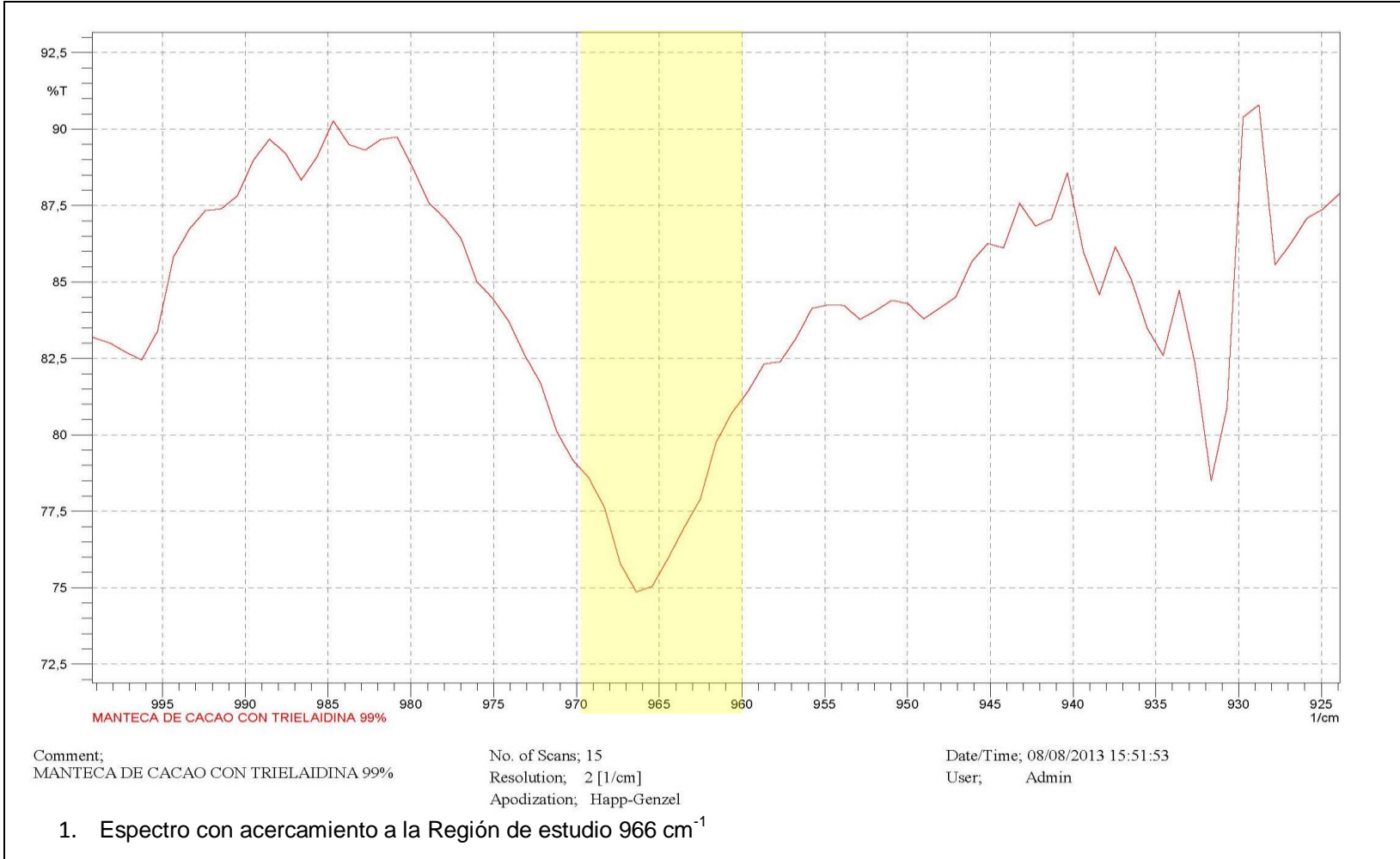


Figura N° 10. Continuación

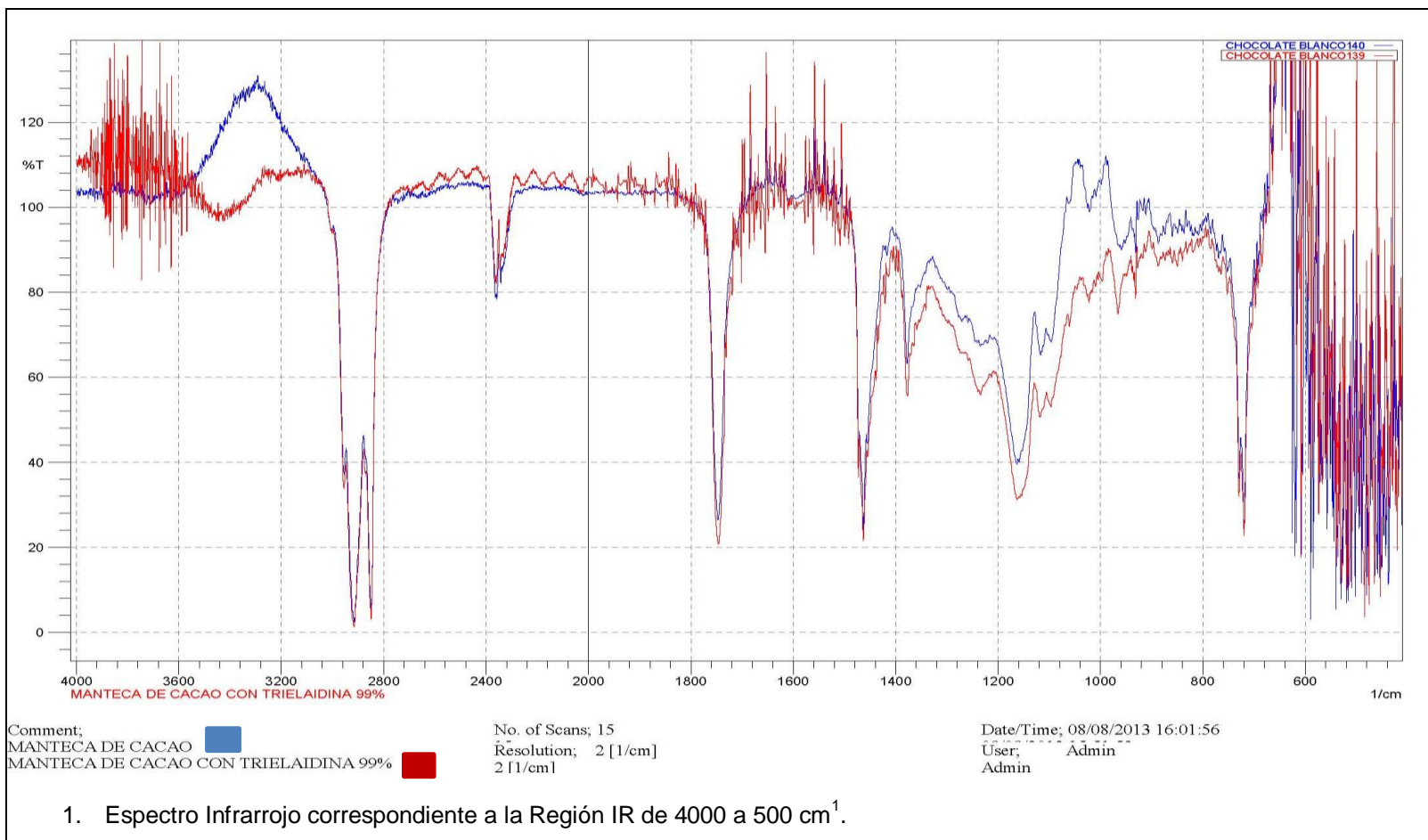


Figura N°11. Espectro obtenido del acoplamiento de la mezcla de Manteca de Cacao con Trielaidina 99% y Manteca de Cacao Materia Prima.

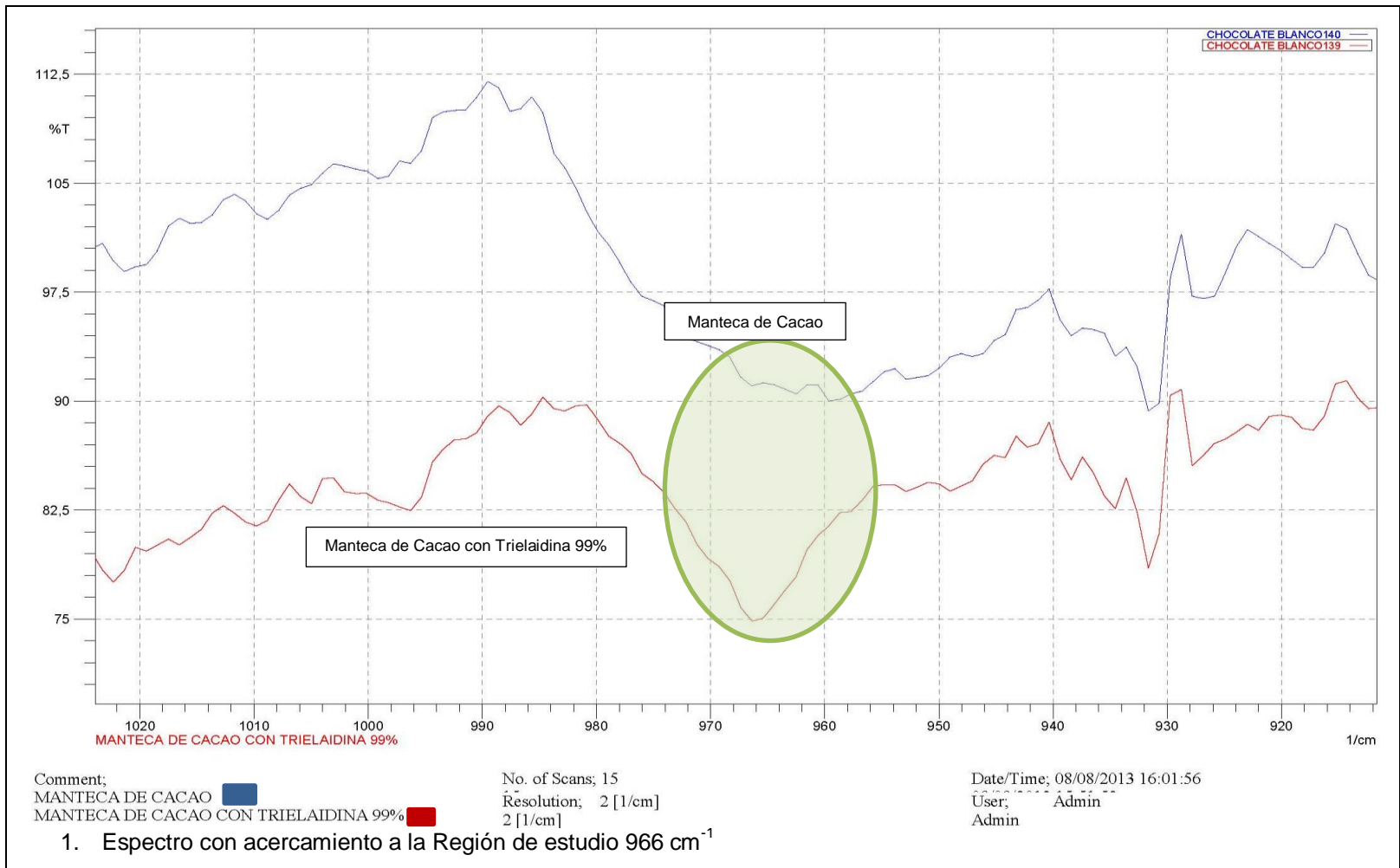


Figura N° 11 Continuación

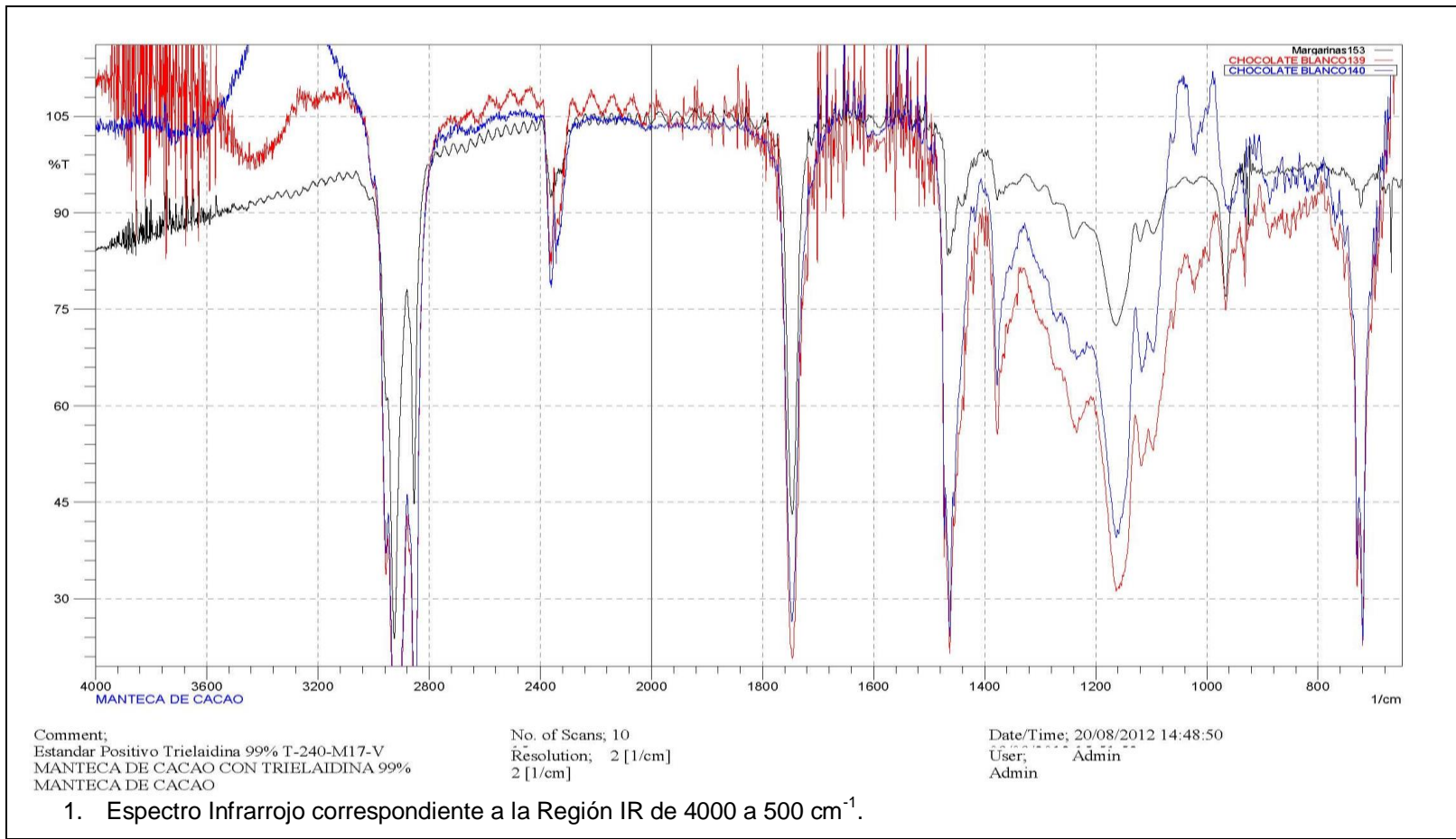


Figura N°12. Espectro obtenido del acoplamiento de los espectros del estándar de Trabajo, la mezcla de Manteca de Cacao con Trielaidina 99% y de la Manteca de Cacao como materia prima.

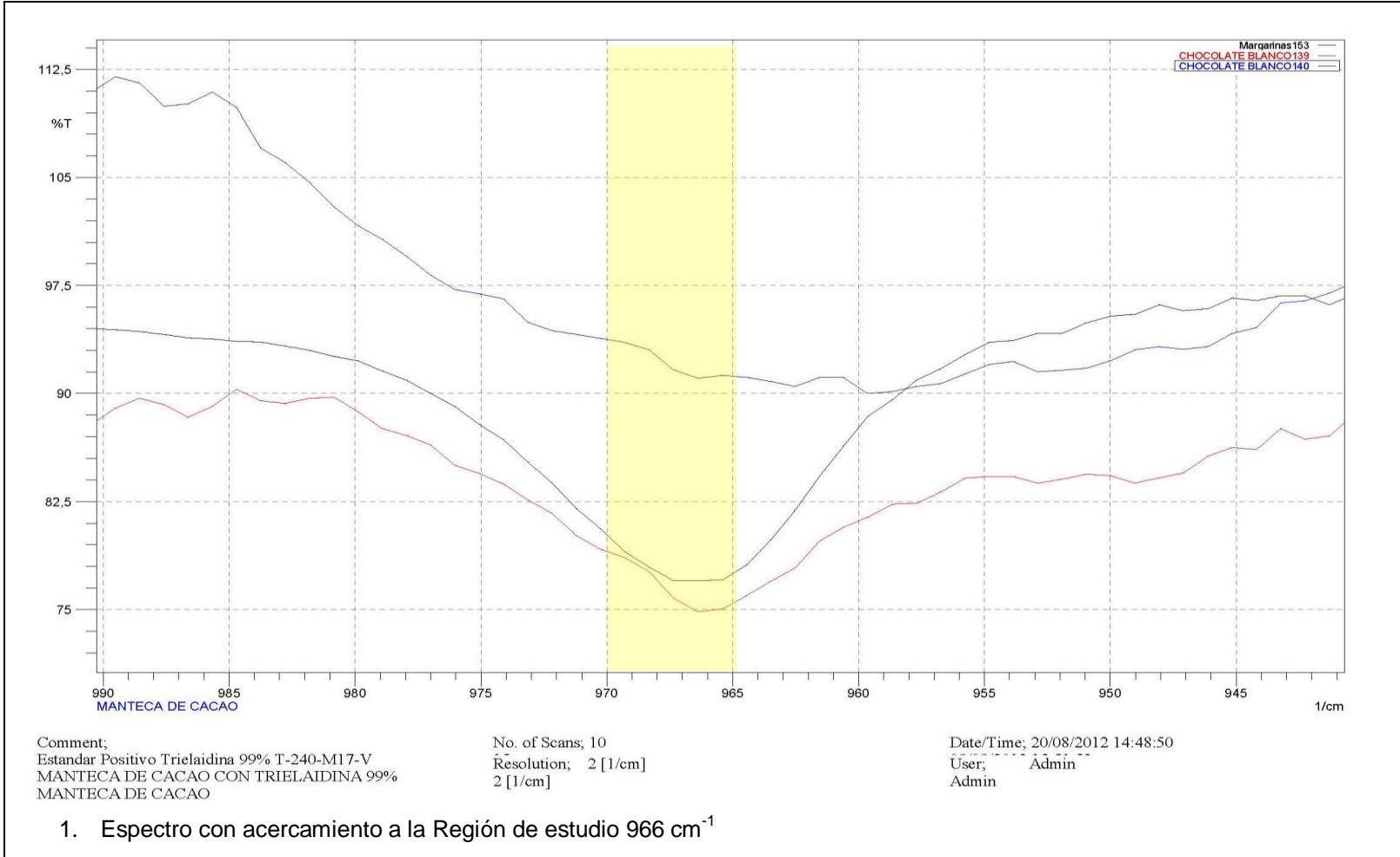


Figura N° 12. Continuación

A continuación se presentan los espectros correspondientes a cada una de las marcas muestreadas en la región del infrarrojo en la que se llevó a cabo el estudio (de los 4000 a 500 cm^{-1}), con su respectivo acercamiento en la región cercana a los 966 cm^{-1} .

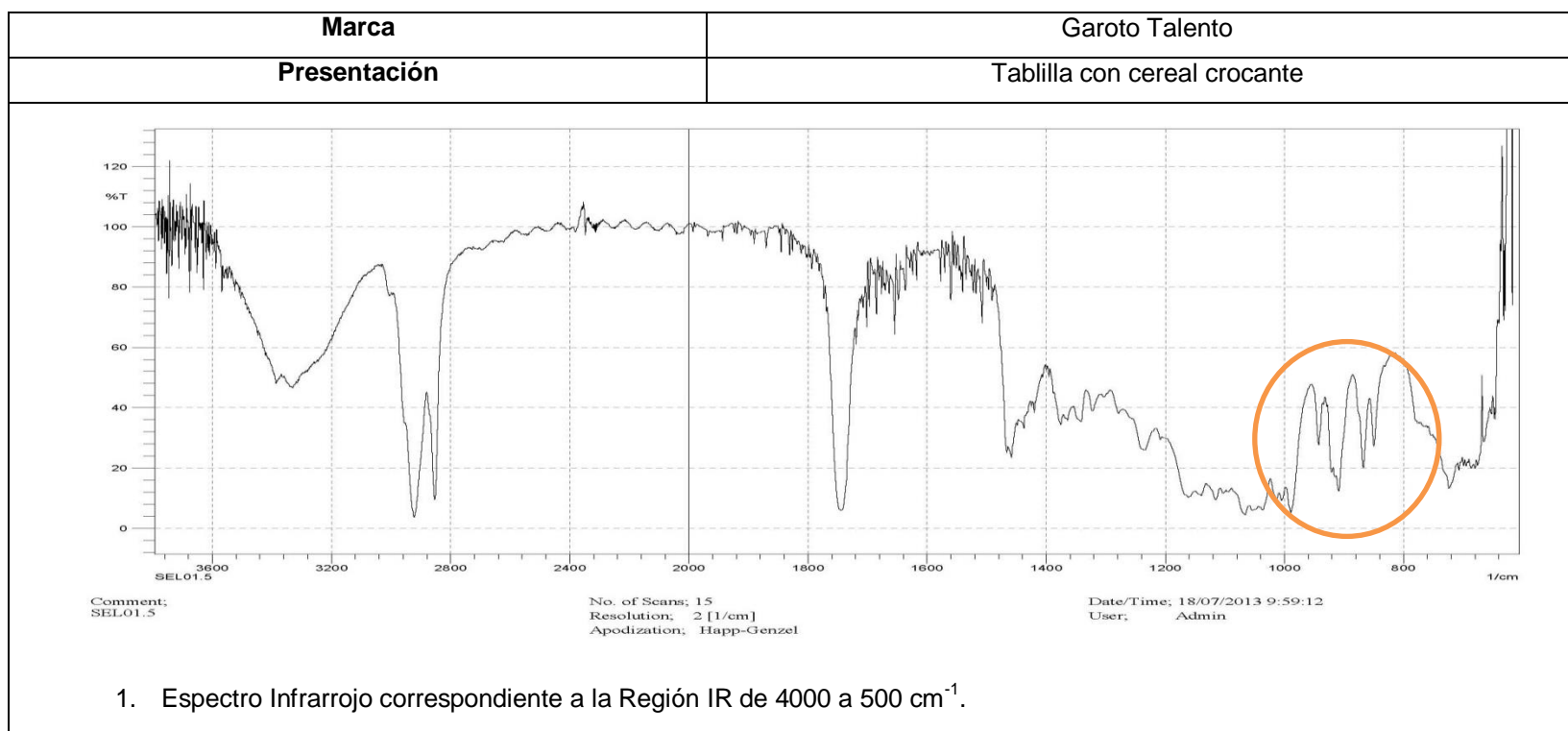


Figura N°13. Espectro correspondiente a la Marca Garoto Talento en su presentación como Tablilla con Cereal Crocante.

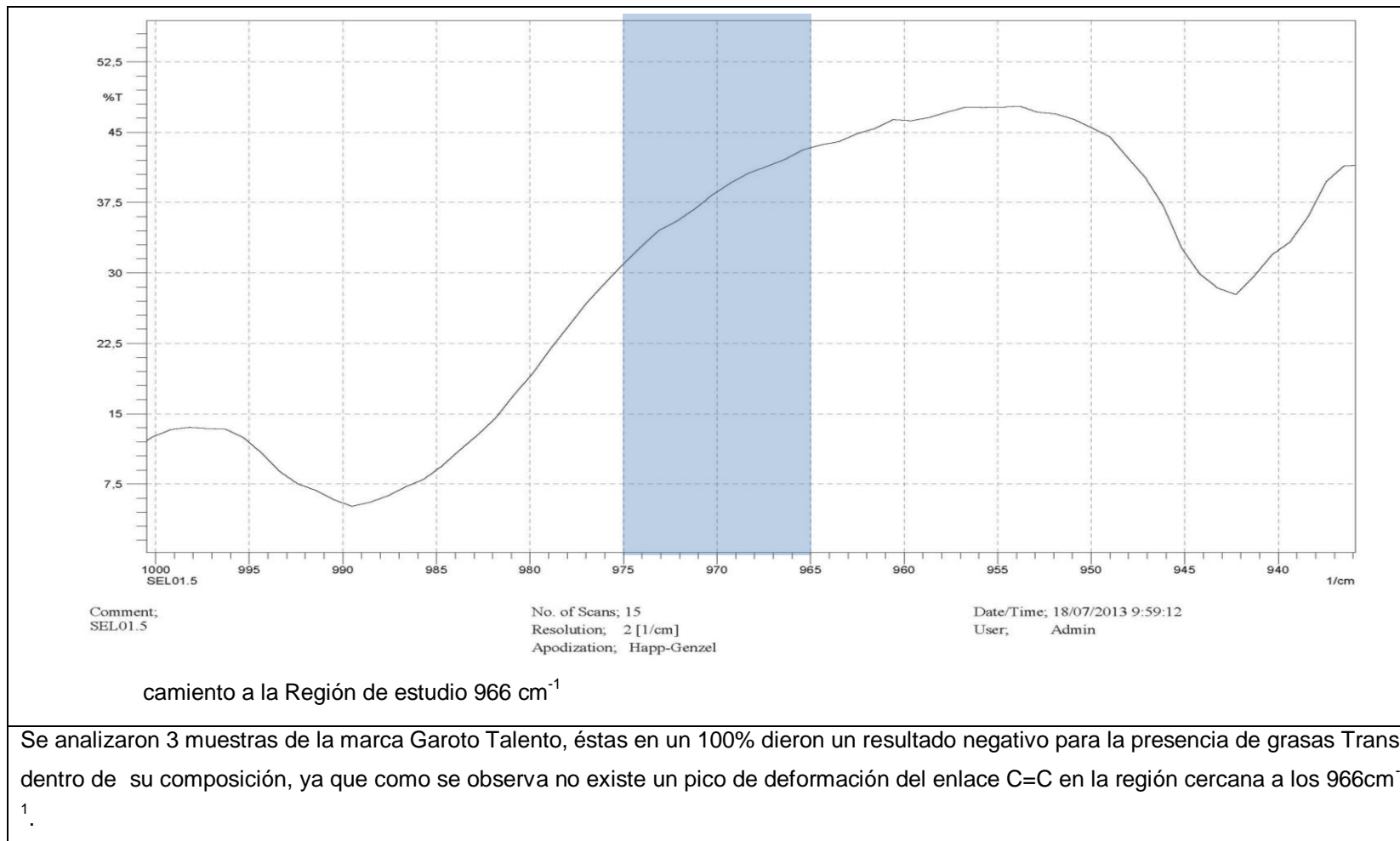


Figura N°13. Continuación

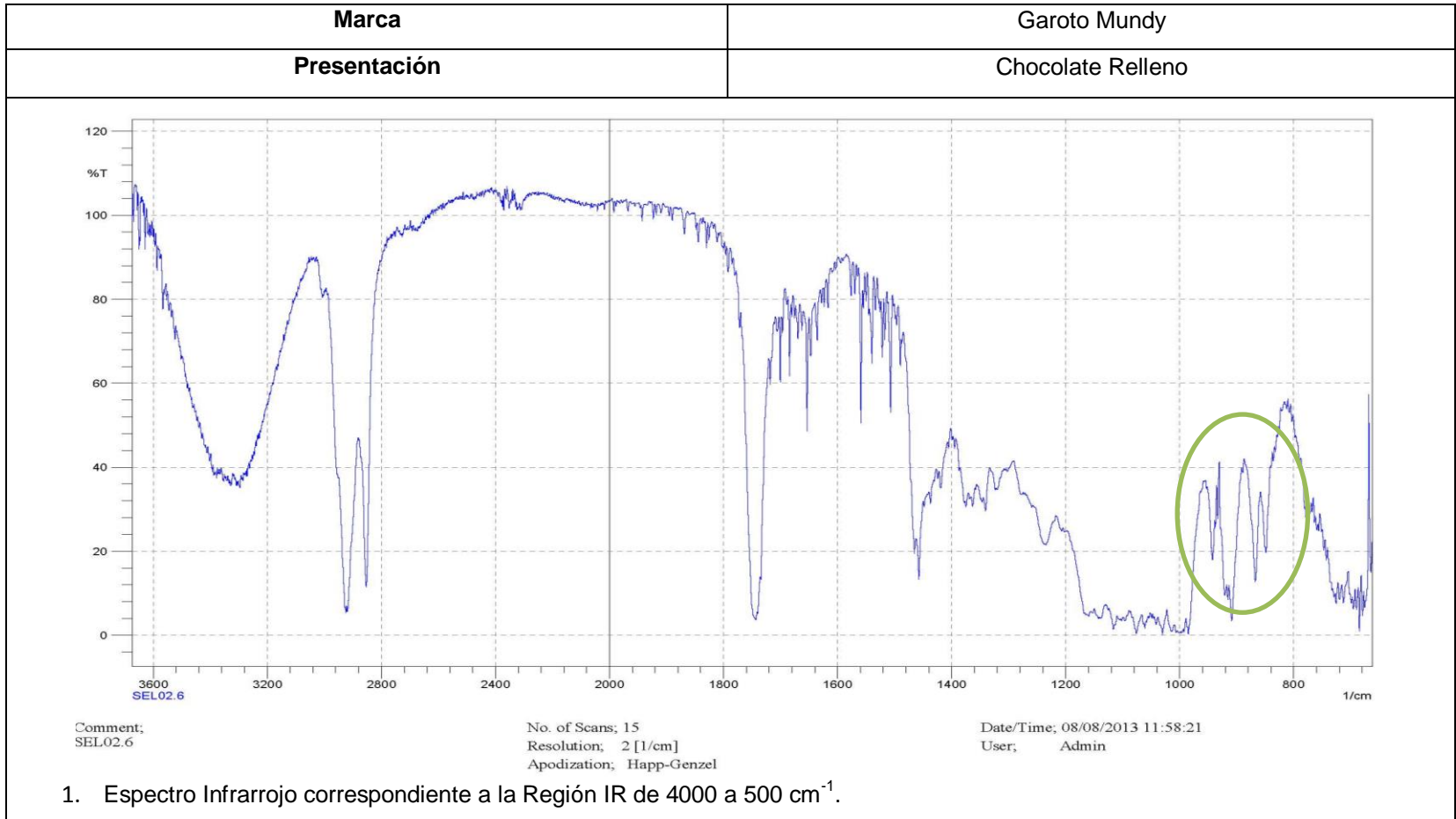
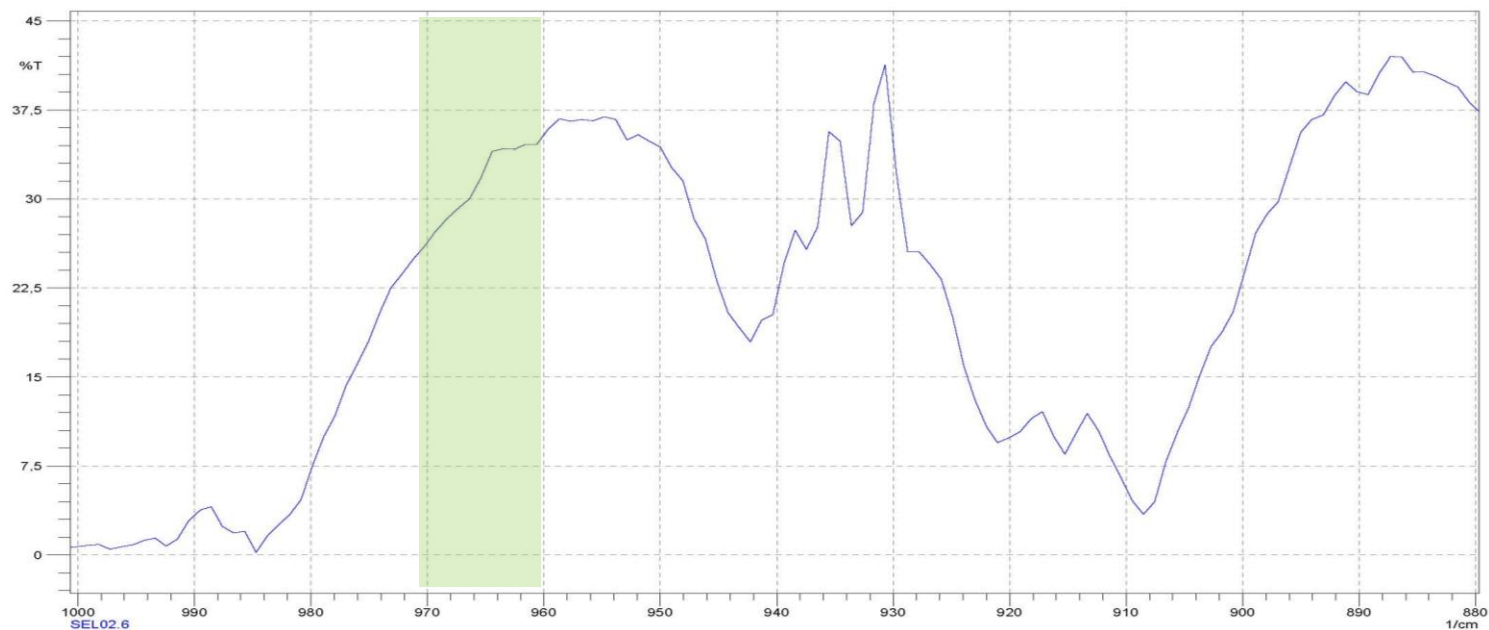


Figura N°14. Espectro correspondiente a la Marca Garoto Mundy en su presentación como bombones de chocolate Relleno.



Comment;
SEL02.6

No. of Scans; 15
Resolution; 2 [1/cm]
Apodization; Happ-Genzel

Date/Time; 08/08/2013 11:58:21
User; Admin

2. Espectro con acercamiento a la Región de estudio 966 cm^{-1}

Al analizar las 3 muestras de la marca Garoto Mundy, éstas dieron un resultado negativo en su totalidad para la presencia de grasas Trans dentro de su composición, ya que como se observa, no existe un pico de deformación del enlace C=C en la región cercana a los 966cm^{-1} .

Figura N°14. Continuación

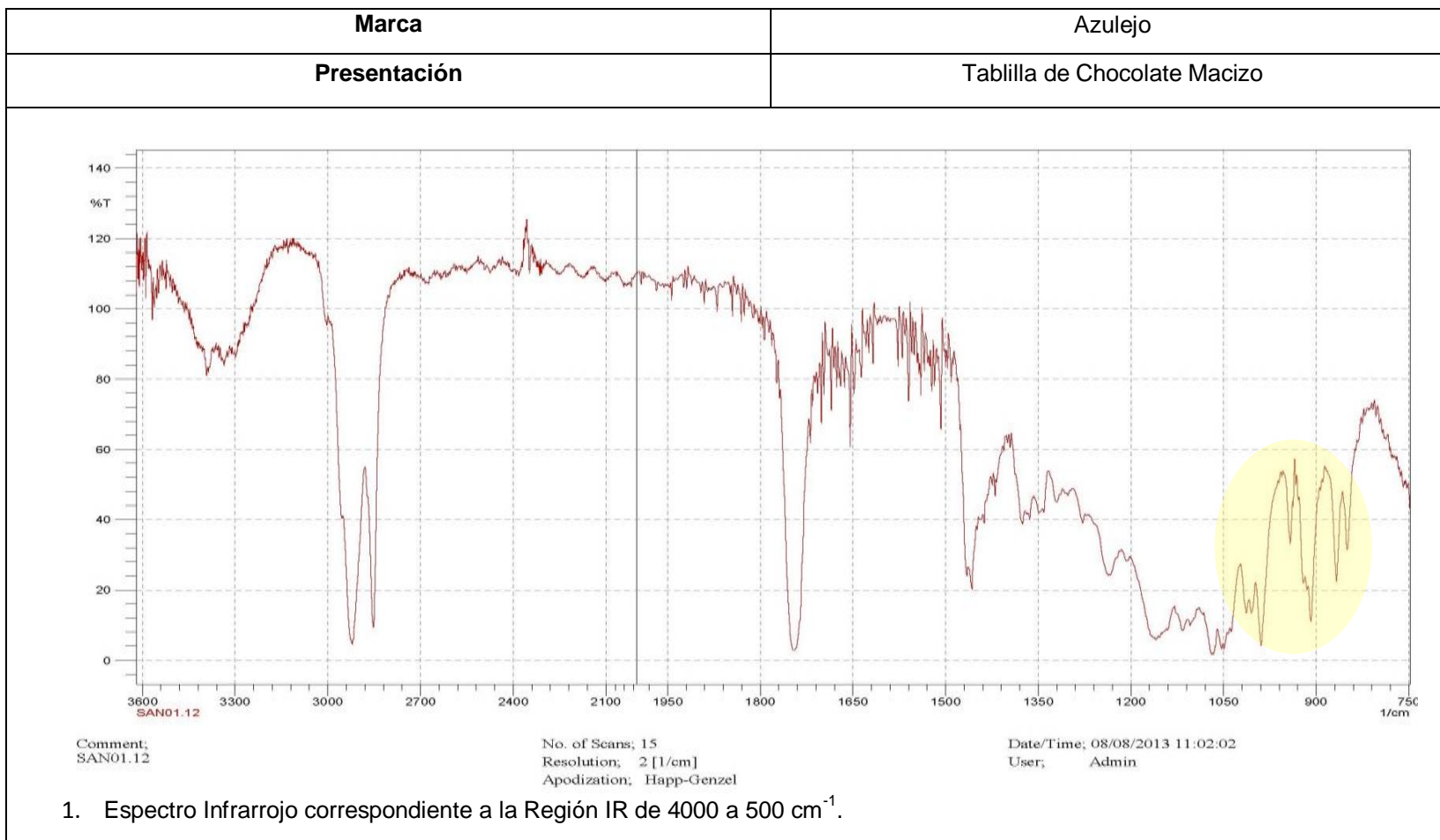
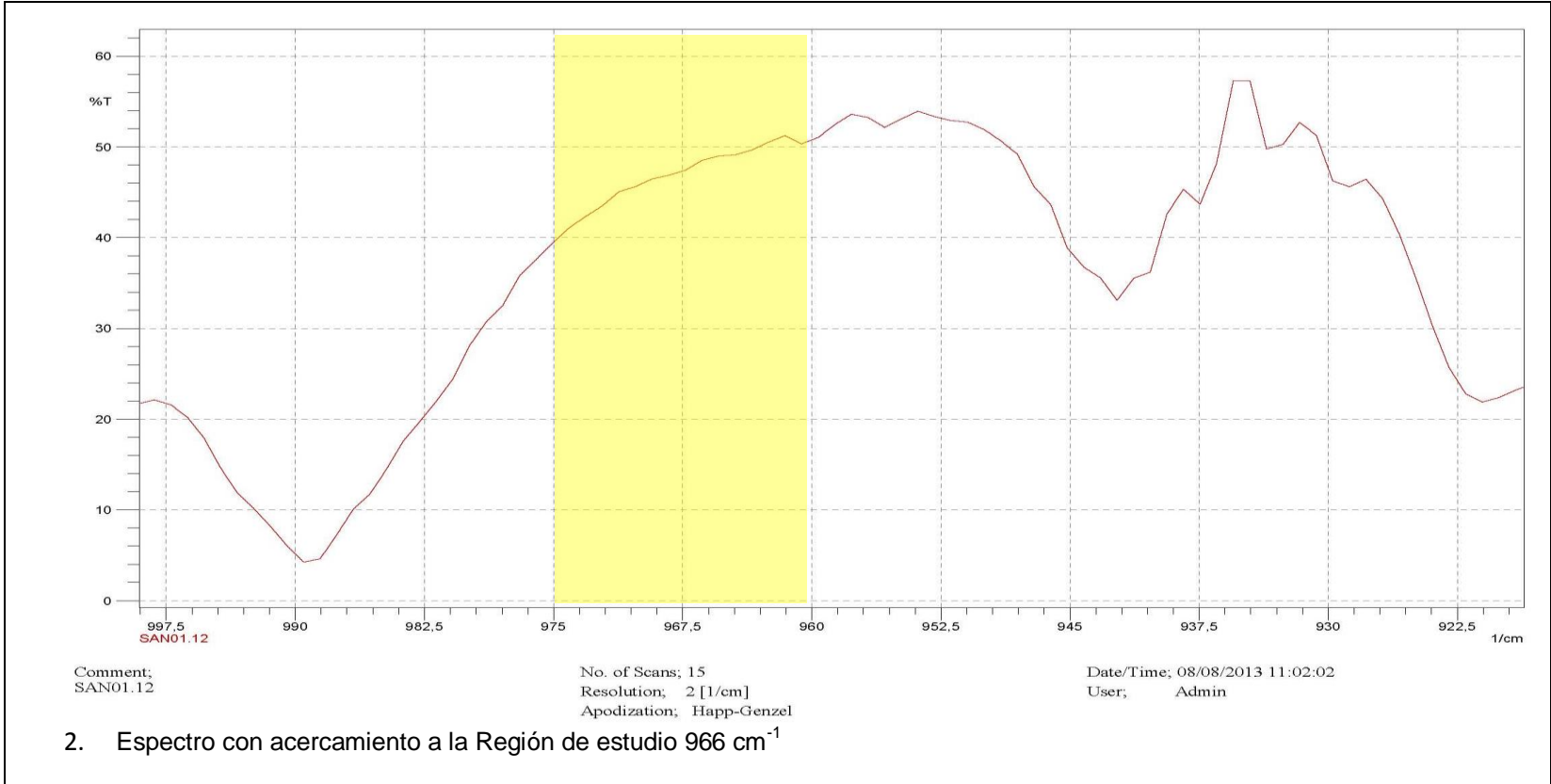


Figura N°15. Espectro correspondiente a la Marca Azulejo en su presentación como Tablilla de Chocolate Macizo.



De las 6 muestras analizadas de la marca Azulejo, éstas en un 100% dieron un resultado negativo para la presencia de grasas Trans dentro de su composición, como puede observarse no existe un pico de deformación del enlace C=C en la región cercana a los 966 cm^{-1} .

Figura N°15. Continuación

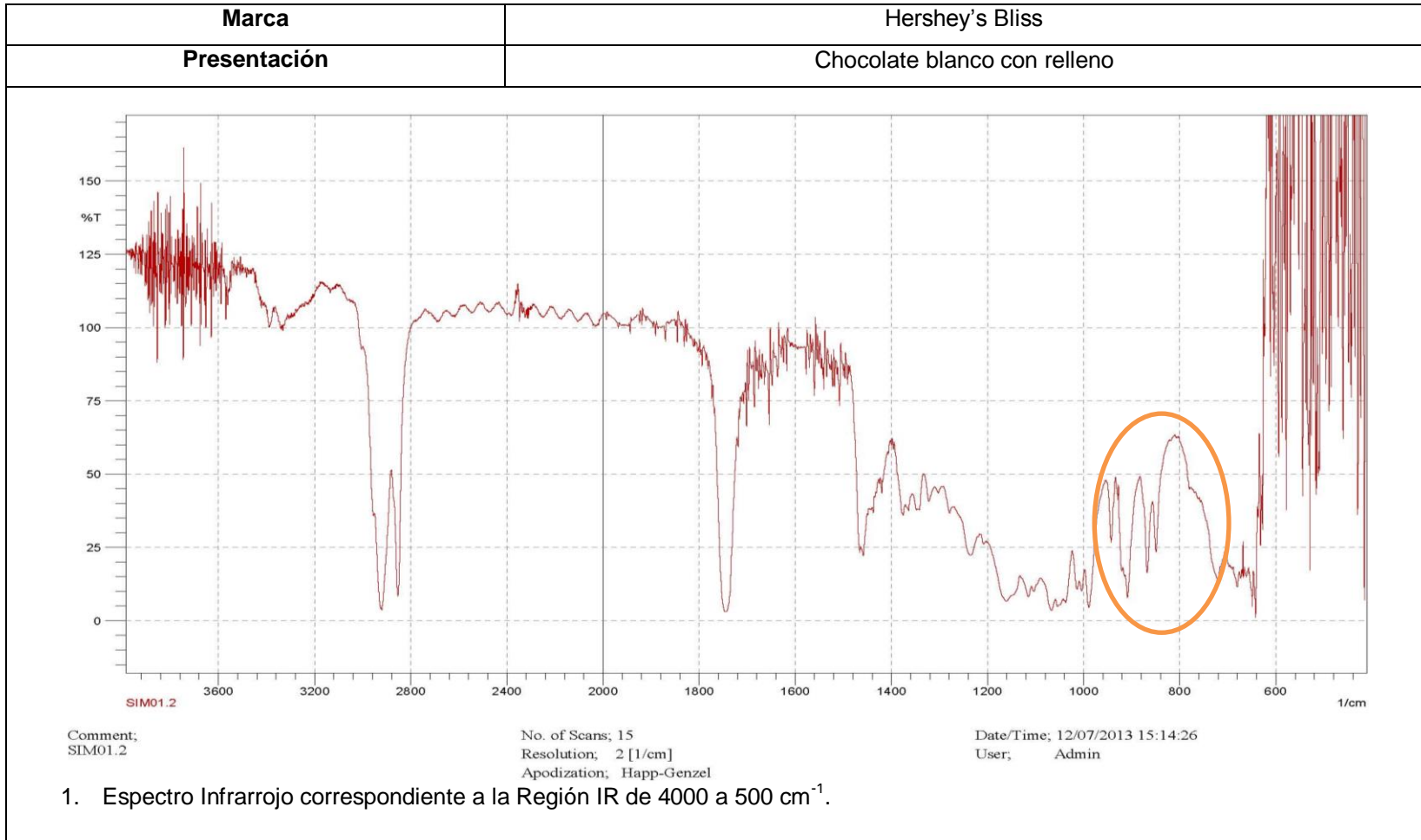
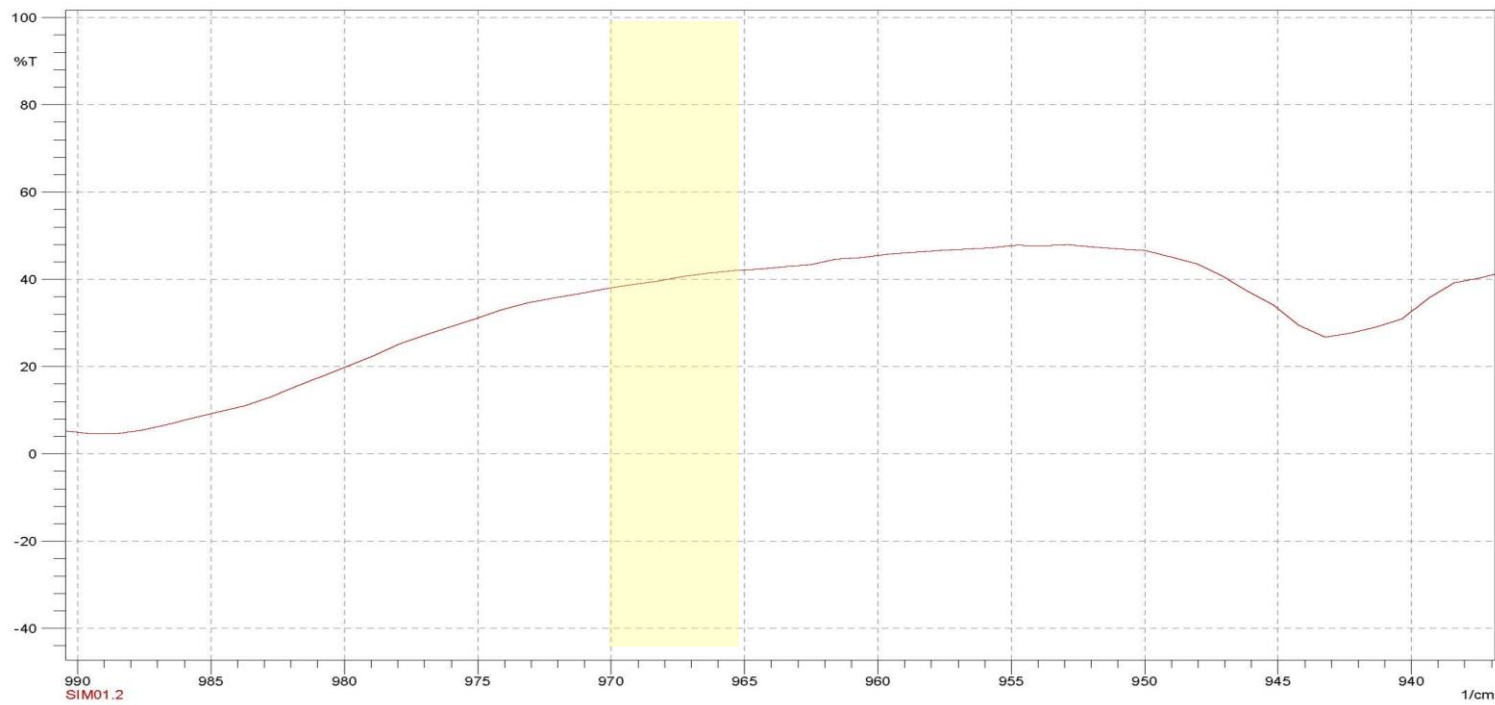


Figura N°16. Espectro correspondiente a la Marca Hershey's Bliss en su presentación como Chocolate blanco con relleno.



Comment;
SIM01.2

No. of Scans; 15
Resolution; 2 [1/cm]
Apodization; Happ-Genzel

Date/Time; 12/07/2013 15:14:26
User; Admin

2. Espectro con acercamiento a la Región de estudio 966 cm^{-1} .

De las 3 muestras analizadas de la marca Hershey's Bliss, éstas en un 100% dieron un resultado negativo para la presencia de grasas Trans dentro de su composición, puesto que como se observa, no existe un pico de deformación del enlace C=C en la región cercana a los 966 cm^{-1} .

Figura N°16. Continuación

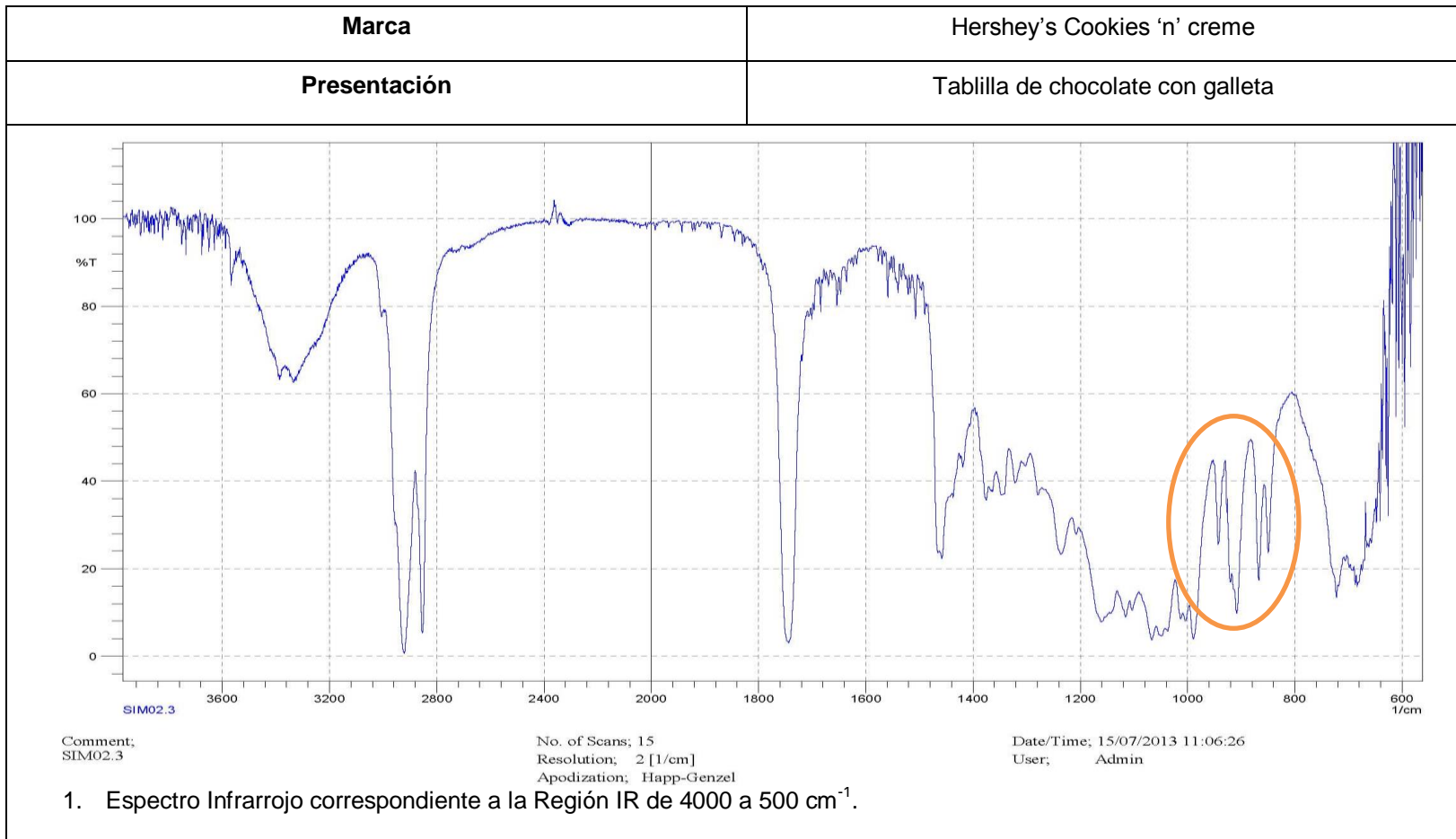
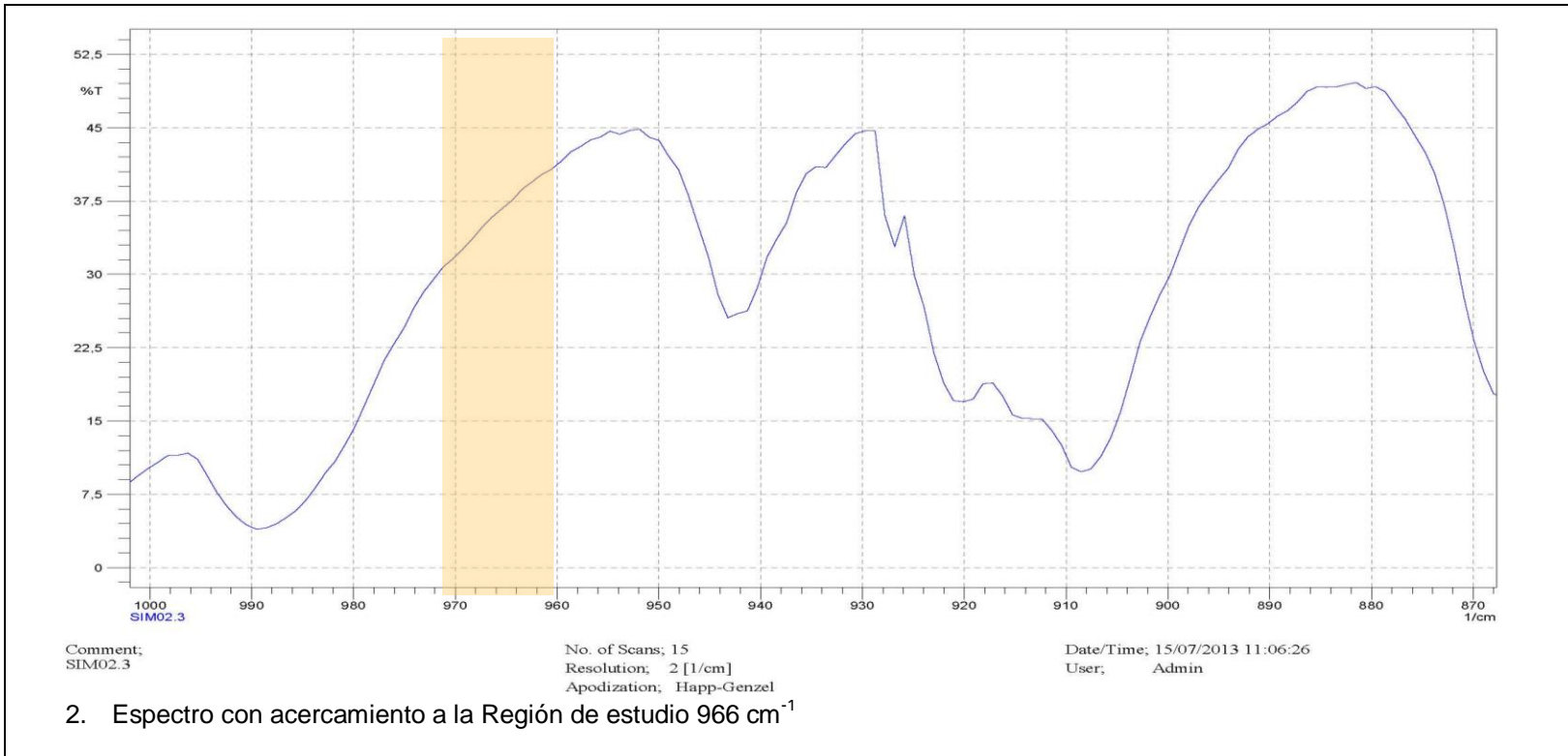


Figura N°17. Espectro correspondiente a la Marca Hershey's Cookies 'n' creme en su presentación como Tablilla de chocolate con galleta.



De las 3 muestras analizadas de la marca Hershey's Cookies 'n' Creme, éstas en un 100% dieron un resultado negativo para la presencia de grasas Trans dentro de su composición, ya que como se observa, no existe un pico de deformación del enlace C=C en la región cercana a los 966cm⁻¹.

Figura N°17. Continuación

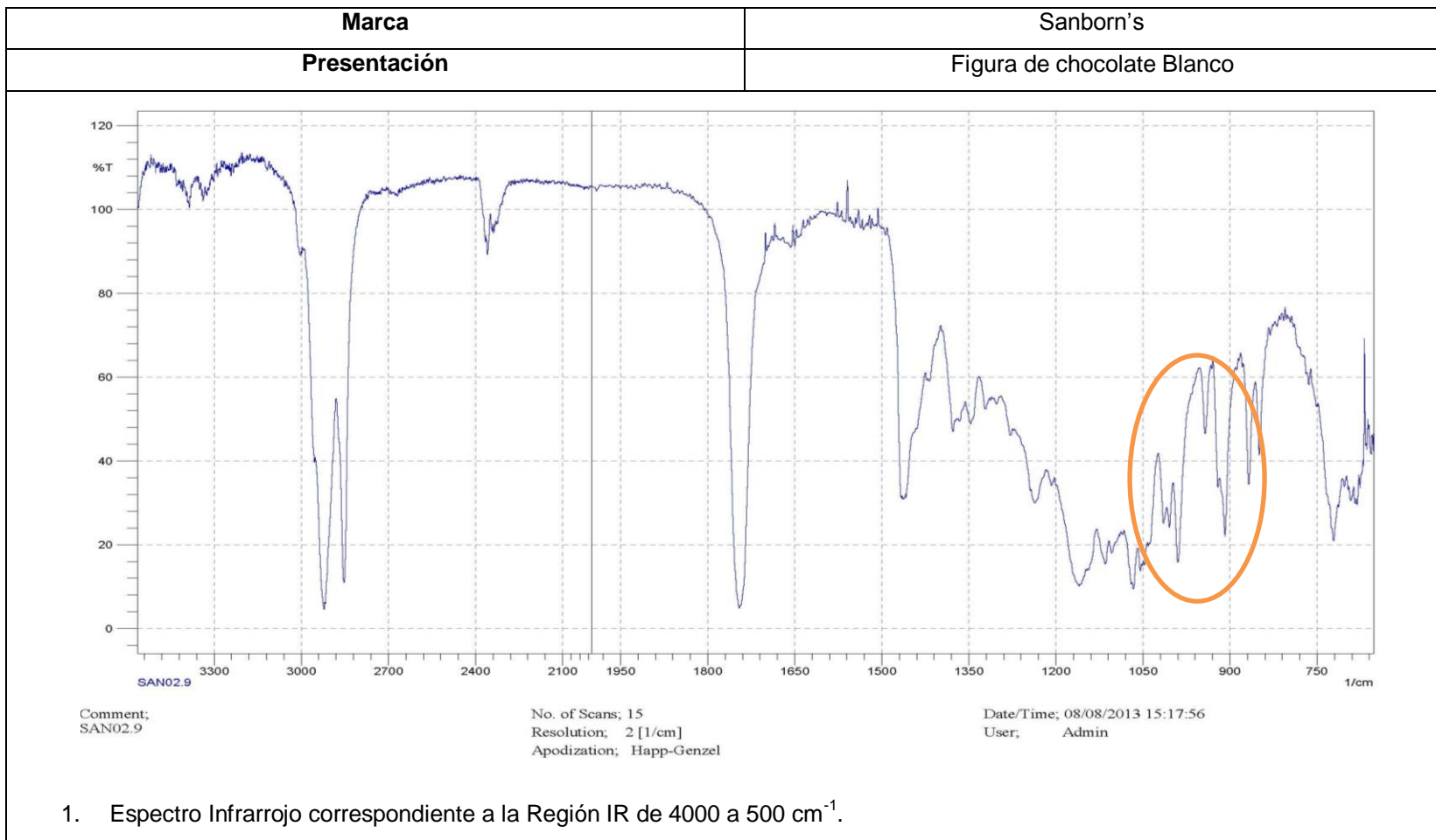


Figura N°18. Espectro correspondiente a la Marca Sanborn's en su presentación como Figura de chocolate Blanco.

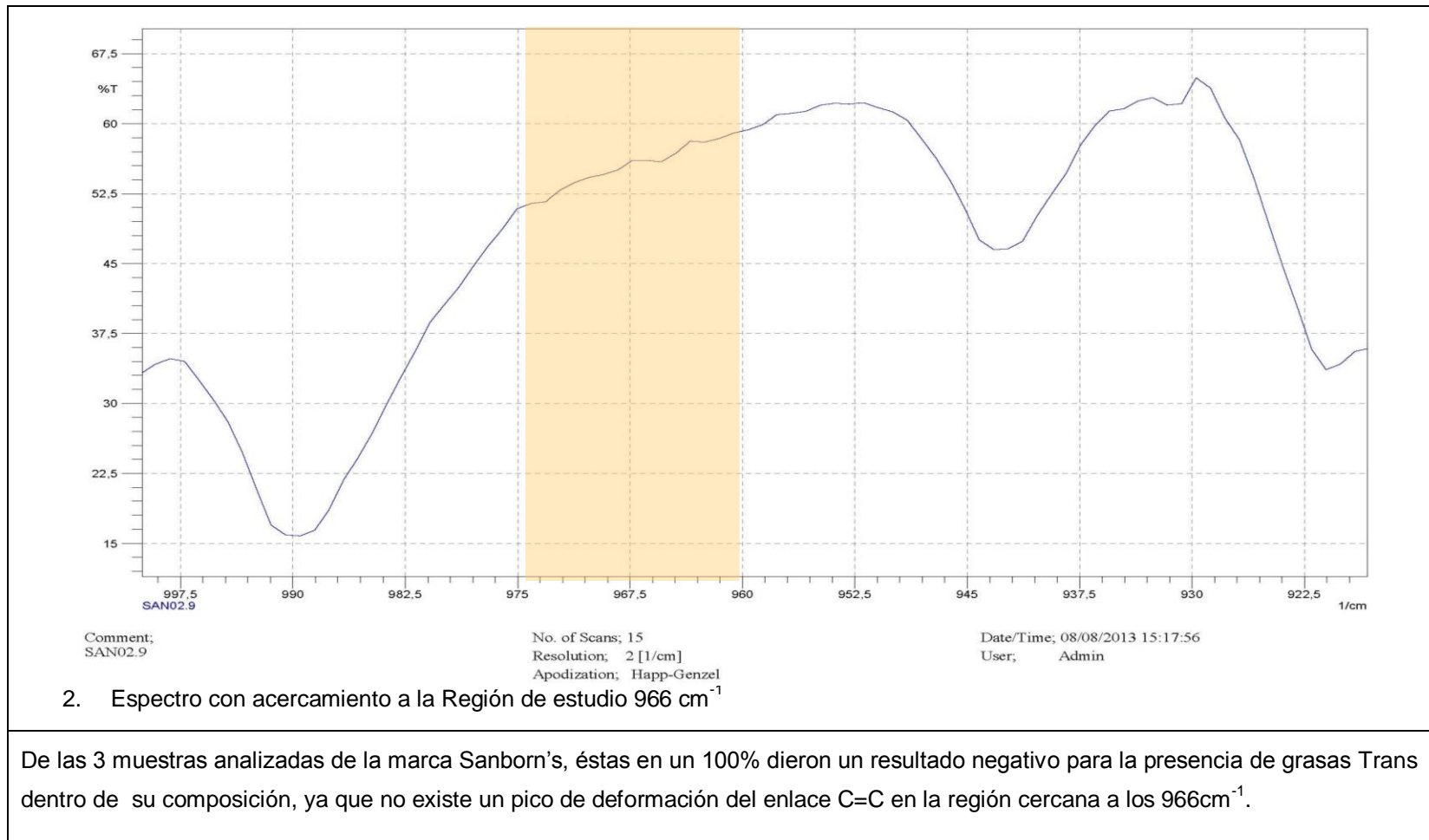


Figura N°18. Continuación

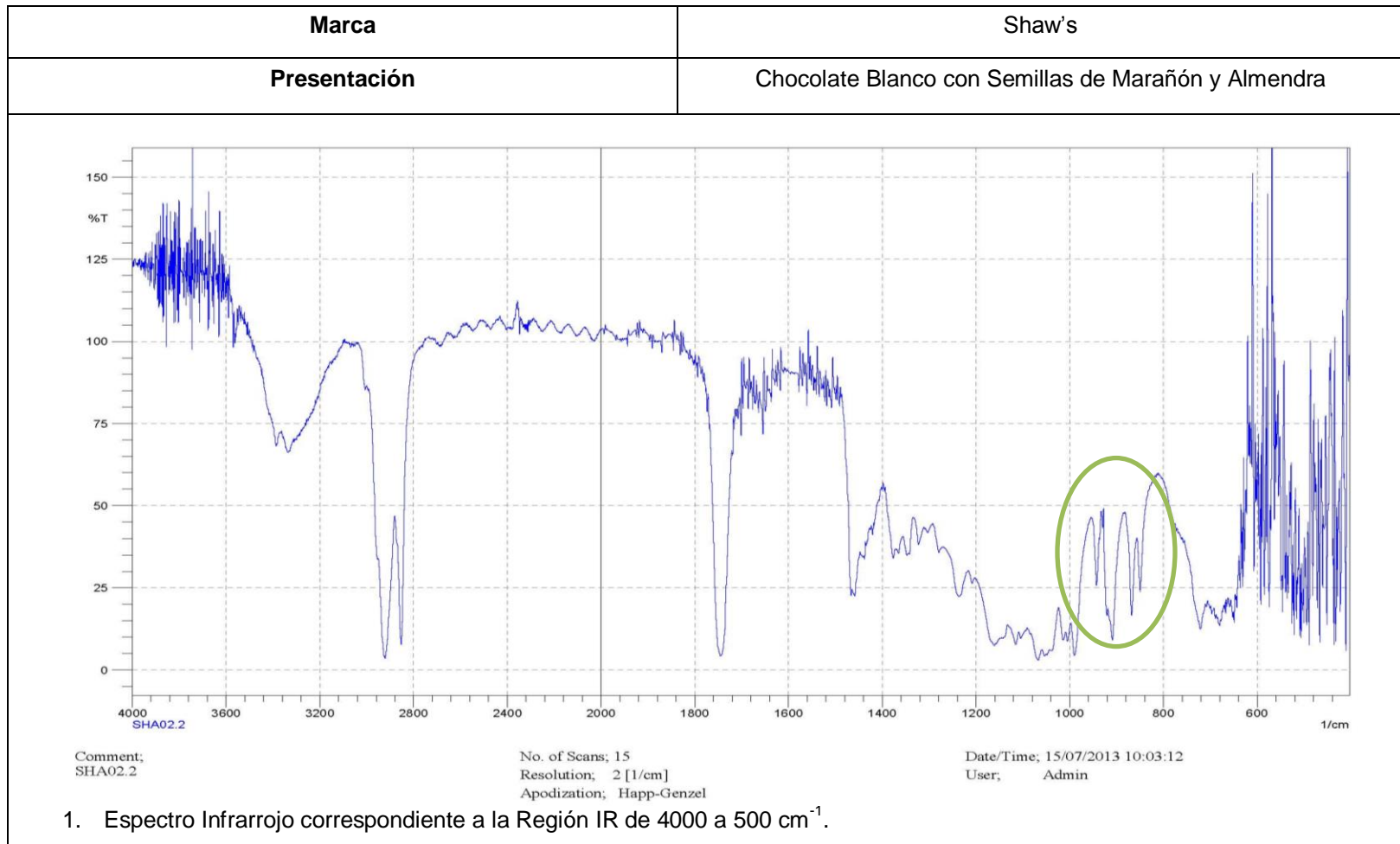
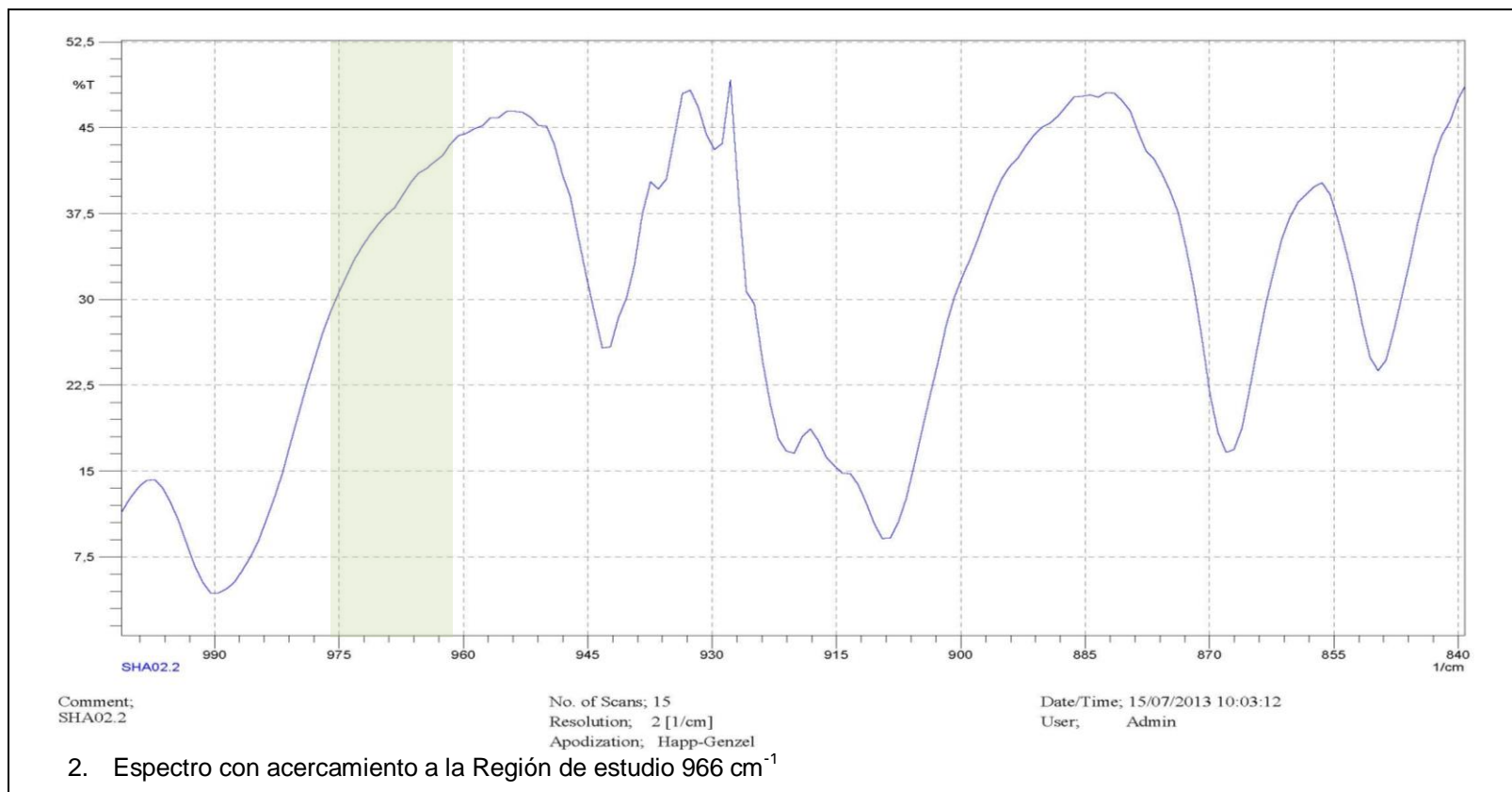


Figura N°19. Espectro correspondiente a la Marca Shaw's en su presentación como Chocolate Blanco con Semillas de Marañón y Almendra.



De las 3 muestras analizadas de la marca Shaw's, en su presentación de Chocolate Blanco con Semillas de Marañón y Almendra éstas en un 100% dieron un resultado negativo para la presencia de grasas Trans dentro de su composición, ya que como se observa, no existe un pico de deformación del enlace C=C en la región cercana a los 966 cm⁻¹.

Figura N°19. Continuación

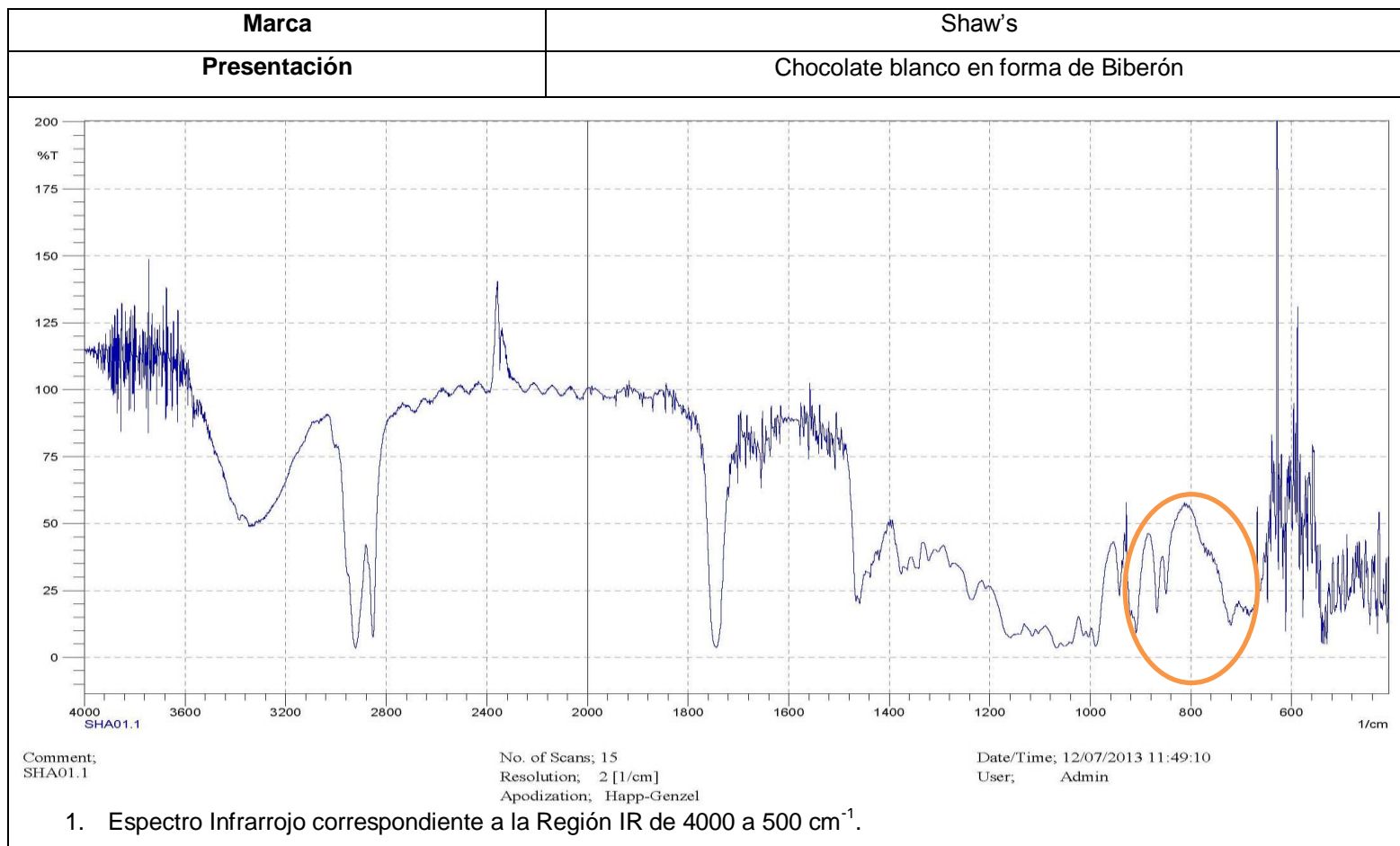


Figura N°20. Espectro correspondiente a la Marca Shaw's en su presentación como Chocolate blanco en forma de Biberón.

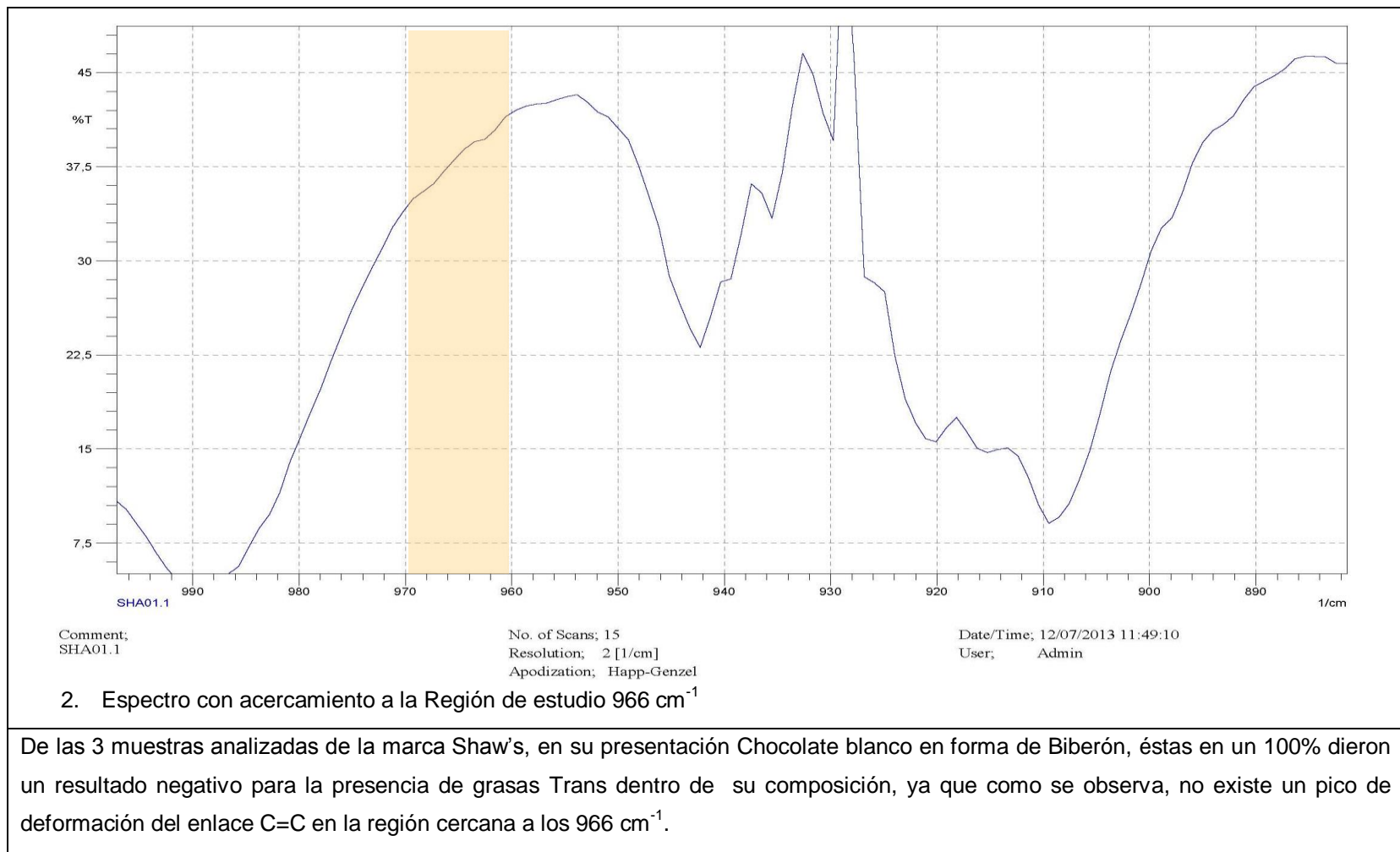


Figura 20. Continuación

5.5 Verificar el cumplimiento del etiquetado en cuanto a contenido de grasas trans rotulado en la envoltura del producto.

En El Salvador no existe una norma que regule el etiquetado y contenido en cuanto a grasas trans para productos como el chocolate, sus derivados y afines, por lo que para la presente investigación se consultaron las siguientes normas aplicadas a nivel nacional:

- NSO 17.08.07:04 Requerimientos de etiquetado para productos preempacados.
- NSO CODEX CAC/GL 2 Directrices del Códex Alimentarius sobre etiquetado nutricional.

Como norma internacional se consultó la Norma del Códex Alimentarius:

- CODEX STAN 87 Norma para el chocolate y los productos del chocolate. ⁽⁸⁾

En la NSO 17.08.07:04 se contemplan lineamientos generales en cuanto al etiquetado de productos preempacados que deben de ser reflejados en la etiqueta del producto, dentro de los que se encuentran:

- Identidad del Producto
- Idioma
- Fecha de Vencimiento
- Nombre y Lugar del Negocio del Fabricante, empacador, distribuidor o importador.
- Presentación de la Información

El Códex Alimentarius en sus directrices sobre etiquetado nutricional hace referencia al etiquetado de grasas en las secciones que se exponen en la Tabla N°8. ⁽⁸⁾

Tabla N°8. Directrices del Códex Alimentarius Sobre Etiquetado Nutricional en cuanto a etiquetado de grasas trans. ⁽⁶⁾

Sección	Contenido																											
3.2.5	Cuando se haga una declaración de propiedades con respecto a la cantidad o el tipo de ácidos grasos o la cantidad de colesterol, deberán declararse las cantidades de ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados y colesterol, y la legislación nacional quizá exija declarar la cantidad de ácidos grasos –trans, además de los requisitos establecidos en la Sección 3.2.1 y de conformidad con lo estipulado en la Sección 3.4.7.																											
3.4.3	La información sobre la cantidad de proteínas, carbohidratos y grasas que contienen los alimentos deberá expresarse en g por 100 g o por 100 ml o por envase, si éste contiene sólo una porción. Además, esta información podrá darse por ración cuantificada en la etiqueta, o por porción, si se declara el número de porciones que contiene el envase.																											
3.4.7	<p>Cuando se declaren la cantidad y/o el tipo de ácidos grasos, esta declaración deberá seguir inmediatamente a la declaración del contenido total de grasas, de conformidad con la Subsección 3.4.3.</p> <p>Deberá usarse el formato siguiente:</p> <table style="margin-left: 40px;"> <tr> <td style="text-align: right;">Contenido total de grasa</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td colspan="3"><hr/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">de las cuales</td> <td style="font-size: 2em; vertical-align: middle;">{</td> <td> <table style="border-collapse: collapse; margin-left: 10px;"> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos saturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos – trans</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos monoinsaturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos poliinsaturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> </table> </td> </tr> <tr> <td colspan="3"><hr/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Cholesterol</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">mg</td> </tr> </table>	Contenido total de grasa	...	g	<hr/>			de las cuales	{	<table style="border-collapse: collapse; margin-left: 10px;"> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos saturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos – trans</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos monoinsaturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos poliinsaturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> </table>	ácidos grasos saturados	...	g	ácidos grasos – trans	...	g	ácidos grasos monoinsaturados	...	g	ácidos grasos poliinsaturados	...	g	<hr/>			Cholesterol	...	mg
Contenido total de grasa	...	g																										
<hr/>																												
de las cuales	{	<table style="border-collapse: collapse; margin-left: 10px;"> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos saturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos – trans</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos monoinsaturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 10px;">ácidos grasos poliinsaturados</td> <td style="text-align: center;">...</td> <td style="text-align: right;">g</td> </tr> </table>	ácidos grasos saturados	...	g	ácidos grasos – trans	...	g	ácidos grasos monoinsaturados	...	g	ácidos grasos poliinsaturados	...	g														
ácidos grasos saturados	...	g																										
ácidos grasos – trans	...	g																										
ácidos grasos monoinsaturados	...	g																										
ácidos grasos poliinsaturados	...	g																										
<hr/>																												
Cholesterol	...	mg																										

En la Norma para el chocolate y los productos del chocolate (Códex Stan 87-1981), se expone: “El chocolate blanco deberá contener, en extracto seco, no menos del 20% de manteca de cacao y no menos del 14% de extracto seco de leche (incluido un mínimo de grasa de leche entre el 2,5% y el 3,5% según lo aplique la autoridad competente de acuerdo con la legislación aplicable). El extracto seco de leche se refiere a la adición de ingredientes lácteos en sus

proporciones naturales, salvo que la grasa de leche podrá agregarse o eliminarse. ⁽⁵⁾

De las 5 marcas analizadas de chocolate blanco, sólo 3 de estas contaban con un etiquetado tanto de sus ingredientes como nutricional, es por esto que en los siguientes cuadros; se expone la información que presenta en su etiquetado nutricional las marcas Azulejo, Hershey's y Garoto.

Cuadro N°2. Etiquetado Nutricional de Chocolate Blanco marca Azulejo en su presentación como Tablilla de Chocolate Macizo.

Azulejo	
Ingredientes	Valor Nutrimental*
Chocolate Blanco (azúcar, leche entera en polvo, 25.49% manteca de cacao, 0.12% lecitina como emulsificante y 0.02% esencia artificial de vainilla como saborizante.	Tamaño de la porción: 42.5g Cont. Energético: 1001 Kj (240 Kcal) 2.9g Proteínas 15.2g grasas (7.2g grasas saturadas) 23g Carbohidratos (19g azúcares y 0g fibra dietética) y 47mg de sodio *Valores basados en una dieta de 2000 calorías

Cuadro N° 3. Etiquetado Nutricional de Chocolate Blanco marca Hershey's Cookies 'n' Cream en su presentación como Tablilla de chocolate con galleta.

Hershey's Cookies 'n' Cream	
Ingredientes	Datos Nutricionales*
<p>Chocolate blanco (azúcar, manteca de cacao, leche descremada, lactosa, suero de minerales, grasa de leche, lecitina de soya y PGPR (como emulsión); vainilla como sabor artificial, tocoferoles (para preservar frescura) harina enriquecida (harina de trigo, niacina, hierro reducido, mononitrato de la tiamina, riboflavina y ácido fólico), azúcar, aceite vegetal parcialmente hidrogenado (aceite de frijol de soya y/o de semilla de algodón), contiene menos de 2% de: cocoa preservada con álcali, suero (de leche), chocolate, jarabe de maíz alto en fructuosa, bicarbonato de sodio, sal, lecitina de soya, sabores naturales y artificiales.</p>	<p>Tamaño de la porción: 1 barra Calorías: 220 Calorías de grasa: 100 Cant./Porción % Grasas total 12g 18% Grasa saturada 7g 35% Grasa Trans 0g Colesterol 5mg 2% Sodio 100mg 4% Carbohidratos totales 26g 9% Fibra dietética 0g 0%</p> <p>*Porcentaje de valores diarios basados en una dieta de 2000 calorías</p>

Cuadro N° 4. Etiquetado Nutricional de Chocolate Blanco marca Garoto Talento en su presentación como Tablilla con cereal crocante.

Garoto Talento	
Ingredientes	Datos de Nutrición*
azúcar, manteca de cacao, leche entera en polvo, cereales crocantes, pasas de uva, lactosa, emulsificantes, lecitina de soja/soya (INS 322) y poliglicerol polinicinoleato (INS 476) y aromatizante, contiene Gluten, contiene trazos de almendra, maní/cacahuete, avellana, castaña de cajú/nuez de la india, nuez del Brasil y nueces.	<p>Porción 1/3 barra (33g)</p> <p>Cantidad: 3</p> <p>Calorías: 173</p> <p>Calorías de grasa: 90</p> <p>Grasa total: 10g (15% DV)</p> <p>Grasa saturada 5g (25% DV)</p> <p>Grasa Trans 0g</p> <p>Colesterol 5mg (2% DV)</p> <p>Sodio 38mg (2% DV)</p> <p>Carb. Total 20g (7% DV)</p> <p>Fibra 0.5g (2% DV)</p> <p>Azúcares 18g</p> <p>Proteína 2g</p> <p>Vitamina A (0% DV)</p> <p>Vitamina C (1% DV)</p> <p>Calcio (6% DV)</p> <p>Hierro (2% DV)</p> <p>*Porcentaje del valor diario (VD) está basado en una dieta de 2000 calorías.</p>

Cuadro N° 5. Etiquetado Nutricional de Chocolate Blanco marca Garoto Mundy en su presentación como Chocolate Relleno.

Garoto Mundy	
Bombón Blanco con relleno sabor a Torta de Limón	
Ingredientes	Información nutricional:
<p>azúcar, manteca de cacao, leche entera en polvo, lactosa, grasa vegetal, grasa láctea, emulsificantes lecitina de soja/soya (INS 322) y poliglicerol polirricinoleato (INS 476), aromatizantes y regulador de la acidez ácido cítrico (INS 330), contiene Gluten, contiene trazos de almendra, maní/cacahuete, avellana, castaña de cajú/nuez de la india, nuez del Brasil y nueces. Contiene Aromatizante.</p>	<p>Porción: 12.5g (1 bombón) Valor energético 71kcal=298Kj (4% VD*) Carbohidratos 7.6g (3% VD*) Proteínas 0g (0% VD*) Grasas totales 4.3g (8% VD*) Grasas saturadas 2.3g (10% VD*) Grasas trans 0g Fibra alimentaria 0g (0% VD*) Sodio 5.4 mg (0% VD*).</p> <p>*% Valores Diarios con base a una dieta de 2000kcal u 8.400kJ. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades energéticas.</p>
Garoto Mundy	
Bombón Blanco con relleno sabor Papaya y Cassis	
Ingredientes	Información Nutricional
<p>Azúcar, manteca de cacao, leche entera en polvo, lactosa, grasas vegetal, grasa láctea, emulsificantes, lecitina de soja/soya (INS 322) y poliglicerol polirricinoleato (INS 476) y aromatizantes. Contiene GLUTEN. Contiene trazos de almendra, maní cacahuete, avellana, castaña de caju, nuez del Brasil y nueces. Contiene aroma sintético e idéntico al natural.</p>	<p>Porción 12.5g (1 bombón) Valor energético 69kcal = 290kJ (3% VD*) Proteínas 0g (0% VD*) Grasas totales 4.0g (7% VD*) Grasas saturadas 2.2g (10% VD*) Grasas trans 0g Fibra alimentaria 0g (0% VD*) Sodio 6.1mg (0% VD*)</p> <p>*% Valores Diarios con base a una dieta de 2.000kcal u 8.400kJ. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades energéticas.</p>

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Al comparar los espectros obtenidos con el estándar de trabajo (manteca de cacao + Trielaidina) fue posible confirmar la ausencia de grasas trans en todas las muestras de chocolate blanco SEL, SAN, SHA y SIM analizadas; ya que no se detecta la deformación del enlace C=C que presenta el isómero trans en la región cercana a los 966cm^{-1} .
2. Al analizar las cinco (5) marcas de Chocolate blanco en sus diferentes presentaciones recolectadas en los establecimientos seleccionados, se determinó que las muestras de las marcas Hershey's, Garoto, Azulejo, Shaw's y Sanborn's no presentaron el pico de absorción característico de ácidos grasos trans en la región de 966 cm^{-1} en cada uno de los espectros obtenidos, lo que indica que el método permite identificar esta sustancia en las muestras con al menos 5% de ácidos grasos trans presentes.
3. El método 2000:10 de la AOAC por Espectroscopía Infrarroja proporciona resultados favorables para la identificación de ácidos grasos; por lo que resulta ser práctico, funcional y además económico en comparación con el análisis de cromatografía de gases.
4. El método de espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier permite la identificación de una serie de señales, las cuales nos indican la presencia de grupos funcionales característicos de las grasas que se encuentran en la manteca de cacao como lo son: el ácido palmítico, el esteárico y oléico, por lo que es aplicable en la identificación de ácidos grasos trans en el chocolate blanco.

5. La espectroscopia Infrarroja de transformada de Fourier se puede utilizar para detectar la adulteración del chocolate blanco.
6. De acuerdo a lo estipulado en la normativa del Codex Alimentarius en cuanto a etiquetado nutricional únicamente las muestras analizadas de las marcas Hershey's (Cookies 'n' Creme y Bliss) y Garoto (Talento y Mundy) cumplen con la normativa; en la marca Azulejo, no se declara el tipo de ácidos grasos que contiene y las marcas Shaw's y Sanborn's no cuentan con un etiquetado nutricional y tampoco hacen una declaración de sus ingredientes.
7. La elaboración de una guía de observación se utilizó como herramienta que permitió identificar las muestras y reducirlas a las presentaciones y marcas de chocolate blanco que fueron codificadas como: SEL, SAN, SHA, SIM.
8. La ingesta diaria o frecuente de Chocolate blanco podría ocasionar enfermedades como obesidad, daños cardiacos entre otras, ya que está compuesto de grasas saturadas que pueden fomentar el desarrollo de éstas enfermedades.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

1. Al Ministerio de Salud, de Educación y Defensoría del consumidor que se cree una política para brindar información en centros educativos y clínicas asistenciales sobre las consecuencias del consumo de grasas saturadas y enseñar la forma correcta de leer las etiquetas y aplicarlas.
2. Que El Salvador debe contar con una norma específica para productos que en su contenido puedan presentar grasas trans, definiendo en esta su declaración en cuanto al contenido permitido de ingredientes y su etiquetado nutricional indicando claramente su contenido de grasas trans.
3. Que el Ministerio de Salud Pública realice estudios sobre Ácidos Grasos Trans en otros alimentos que se vendan en diferentes establecimientos los cuales puedan que contengan éstas grasas y que son de consumo frecuente por parte de la población.
4. A la OSN ya que ellos son los encargados de crear la norma y al Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica que tiene como objetivo el propiciar el acceso a la población consumidora a alimentos que cumplen con parámetros de calidad, la elaboración y divulgación de los Reglamentos Técnicos y las Normas Salvadoreñas Obligatorias. Con el fin de tener su participación en la realización de talleres, para dar a conocer y ampliar los conocimientos del sector comercial en cuanto al cumplimiento de los requisitos, aspectos de calidad y etiquetado de los productos.
5. A la Universidad Nacional de El Salvador para que a través de la unidad de Proyección Social motive a los estudiantes a realizar investigaciones

que puedan favorecer al bienestar y salud de la población tanto estudiantil como en general, y dar un aporte a la sociedad.

6. A la defensoría del consumidor que exija una viñeta o inserto indicando fecha de vencimiento y contenido nutricional para aquellos productos que se venden en cajas de regalo o a granel (por libra).

BIBLIOGRAFIA

1. AOAC (Association of Analytical Communities) (2000). *Official Method 2000.10 Determination of Total Isolated Trans Unsaturated Fatty Acids in Fats and Oils by ATR-FTIR*. EE.UU: Autor.
2. Beckett, S.T. (2000). *The Science of Chocolate*. UK: RSC Paperbacks.
3. Bruno Rodríguez, E. B. y López Miranda, C. E. (2012) “*Adecuación del Método de Espectroscopia Infrarroja en la Identificación de Grasas Trans en Margarina*”. San Salvador: Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia
4. Costaguta, M. E. (2008) *Chocolate*. Argentina: Editorial Albatros.
5. FDA (Administración de Drogas y Alimentos). (2013, Marzo 14). Los ácidos grasos trans ahora serán listados junto con las grasas saturadas colesterol en la etiqueta de información nutricional [On line]. Disponible: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/NFLPM/ucm274591.htm>
6. Lahoz C. y Mostaza J. M. (2007) La aterosclerosis como enfermedad sistémica. [On line]. Disponible: <http://www.revespcardiol.org/es/la-aterosclerosis-como-enfermedad-sistemica/articulo/13099465/>

7. Morazán Chávez A. I. (2012). Evaluación de las características Microultraestructurales para el control de calidad de la Fermentación de Ocho Genotipos Diferentes de Semillas Fermentadas de Theobroma cacao. L. San Salvador: Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia
8. ONU para la Agricultura y la Alimentación Organización Mundial de la Salud (1994). Codex Alimentarius: Azúcares, productos del cacao y el chocolate y productos diversos.
9. Skoog D. A., M. West D., Holler F.J. y Crouch S.R. (2000) *Química Analítica*. Mexico: Editorial Mc Graw Hill.
10. Sol Morales M. (2000). Revalorizando la grasa láctea: Fuente de ácido linoleico conjugado, un importante agente anticancerígeno. [On line]. Disponible:
<http://www.tecnovet.uchile.cl/index.php/RT/article/view/5251/5131>
11. Stoker S. (2010). *General, Organic, and Biological Chemistry*. U Brooks/Cole, Cengage Learning.
12. Trujillo C., A. M. (2009). Estudio de las Grasas y Aceites Utilizados en la Industria Alimenticia en El Salvador y sus Isómeros de Ácidos Grasos Cis y Trans. El Salvador: Universidad Centro Americana “José Simeón Cañas” UCA. Facultad de Ingeniería y Arquitectura.

GLOSARIO

Ácidos grasos: Molécula orgánica lineal de naturaleza lipídica que tiene en su extremo un grupo carboxilo. ⁽¹²⁾

Ácidos grasos trans: ácido graso insaturado que se encuentra principalmente en alimentos industrializados que han sido sometidos a hidrogenación. ⁽¹²⁾

Aterosclerosis: es la acumulación de depósitos adiposos llamados placa en el interior de las paredes de las arterias. ⁽⁶⁾

Espectro de transformada de Fourier: representa una señal compleja en el dominio del tiempo por medio de series de curvas sinusoidales con valores de amplitud y frecuencia específicos. Entonces lo que hace un analizador de espectros que trabaja con la transformada rápida de Fourier es capturar una señal de una máquina, calcular todas las series de señales sinusoidales que contiene la señal compleja y por último mostrarlas de forma individual en una gráfica de espectro. ⁽⁹⁾

Grasas buenas: son grasas insaturadas líquidas y necesarias como energía para nuestro cuerpo. Estas ayudan a reducir los niveles de colesterol y el riesgo de enfermedades del corazón Grasas Saturadas. ⁽⁶⁾

Grasas malas: son las grasas saturadas ya que, son las responsables de la aparición de colesterol y de muchos problemas de circulación. La mayoría de estas grasas se obtienen de origen animal. ⁽⁶⁾

Interferómetro: es un instrumento que emplea la interferencia de las ondas de luz para medir con gran precisión longitudes de onda de la luz misma. ⁽⁹⁾

Isómero Cis: isómero en el que los sustituyentes están en el mismo lado del doble enlace o en la misma cara del cicloalcano. ⁽¹²⁾

Metilxantinas: son sustancias orgánicas alcaloides (metabolitos secundarios de las plantas) que producen, principalmente, una excitación inmediata en la corteza cerebral y otras muchas afecciones físicas expansivas y degenerativas, con su consumición frecuente y abusiva. ⁽⁷⁾

Nibs: fruto del cacao secado, tostado y triturado en pedacitos. ⁽⁴⁾

Sucedáneos de grasa: son sustancias que poseen propiedades organolépticas similares (generalmente textura y sabor) a las grasas comestibles. ⁽⁸⁾

Torrefacción: es la operación en la cual son formados, bajo la acción del calor, los principios aromáticos que no existen previamente, consiste en calentar los granos a una temperatura que provoque modificaciones químicas, físicas y físico-químicas que hace que de éstos se pueda obtener una infusión cuyas cualidades sean satisfactorias. ⁽⁷⁾

ANEXOS

ANEXO N° 1



Figura N°21 Sitio de recolección de muestras: establecimientos localizados al interior de Metrocentro San Salvador.

ANEXO N°2

Guía de observación para conocer las presentaciones y marcas existentes de chocolate blanco

OBJETIVO: Conocer por medio de esta guía de observación las diferentes marcas y presentaciones de chocolate blanco existentes en supermercados y confiterías.

A. Establecimiento:

B. Marca:

C. Presentación:

D. Fecha:

ANEXO N°3

AOAC Official Method 2000.10

Determination of Total Isolated *Trans* Unsaturated Fatty Acids in Fats
and Oils by ATR-FTIR.

(This method is applicable to natural or processed oils and fats
consisting of long-chain fatty acids, esters and triglycerides with *Trans*
levels \pm 5.0%)

AOAC Official Method 2000.10

Determination of Total Isolated *Trans* Unsaturated Fatty Acids in Fats and Oils by ATR-FTIR.

(This method is applicable to natural or processed oils and fats consisting of long-chain fatty acids, esters and triglycerides with *trans* levels \neq 5.0 %) (1)

Table 2000.10 Inter laboratory Study results for Total Isolated *trans* Content by ATR-FTIR

ID	True Value	\bar{x} , %	# Labs ^{a(b)}	S _r	% RSD _r	S _R	% RSD _R	% Rec
		0.8	11(1)	0.1	7.5	0.2	21.1	103
		1.0	12(0)	0.1	10.5	0.3	29.3	97
		5.1	12(0)	0.1	2.3	0.2	3.1	102
		10.3	12(0)	0.4	3.6	0.5	5.1	103
		15.6	12(0)	0.3	2.2	0.5	3.3	103
		20.6	11(1)	0.9	4.5	1.0	5.0	103
		40.1	12(0)	1.4	3.5	1.4	3.5	100

a (b) a= number of labs retained after eliminating outliers, (b) = number of labs removed as outliers

A. Principle

In most naturally occurring vegetable fats and oils, unsaturated constituents contain only isolated double bonds in the *cis* configuration. These *cis* double bonds may be isomerized to the *trans* configuration during extraction and processing procedures, due to oxidation, conversion during heating, and/or partial hydrogenation. Animal and marine fats may contain measurable amounts of naturally occurring *trans* fatty acid geometric isomers. Isolated *trans* double bonds in long-chain fatty acids, fatty acid methyl esters (FAME), soaps and triacylglycerols may be measured by infrared (IR) spectroscopy. A unique absorption band with a maximum at ca 966 cm⁻¹ (10.3 μ m), arising from a C-H deformation vibration about a *trans* double bond, is exhibited in the spectra of all compounds containing an isolated *trans* group; this band is not observed in the spectra of the corresponding saturated and *cis* unsaturated fatty acids. Measurement of the intensity of this absorption band under analytically controlled conditions is the basis for a quantitative method for the determination of total isolated *trans* fatty acids. Fat and oil test samples are not required to be converted to FAME prior to analysis.

This method is not applicable to fats and oils containing ca > 1% of conjugated unsaturation (e.g., tung oil), materials containing functional groups which modify the intensity of the C-H deformation vibration about the *trans* double bond (e.g., castor oil which contains hydroxy fatty acids), or, in general, to any materials containing constituents which have functional groups that give rise to specific absorption bands at, or sufficiently close to interfere with, the 966 cm⁻¹ (10.3 μ m) band of the C-H deformation vibration of the isolated *trans* double bond.

B. Apparatus

(a) *Fourier transform infrared (FTIR) spectrometer*.-- Capable of making measurements at 4 resolution in the spectral range covering 1050-900 cm⁻¹. The instrument data handling system to allow conversion of the spectra to absorbance, scale expansion of the x and y axes, readout of wavenumbers to the nearest 1 cm⁻¹ and absorbance to the nearest 0.0001 amu, and integration of the area under the absorption band at 966 cm⁻¹. FTIR spectrometer equipped with a deuterated triglycine sulfate (DTGS) detector for greatest linearity. In the absence of test samples, a 1-min data collection at 4 cm⁻¹ resolution must yield, between 1050 - 900 cm⁻¹, a peak-to-peak noise level of \neq 0.0005 amu. The 966 cm⁻¹ band for a 1% trielaidin standard, must yield a signal-to-noise ratio > 10:1.

(b) *Attenuated total reflection (ATR) infrared cell.*-- Equipped with a zinc selenide (or equivalent) crystal. The capacity of the horizontal ATR cell is ca 50 μL and is capable of maintaining a constant temperature of 65 ± 2 °C.

(c) *Analytical balance.*-- With 60 g capacity; capable of weighing $0.3 \text{ g} \pm 0.0001 \text{ g}$.

(d) *Disposable plastic pipets.*-- Capable of transferring 50 μL test samples to ATR cell.

(e) *Steam water bath.*-- For melting fats.

C. Reagents

(a) *Primary standards.*-- Trielaidin (TE) and triolein (TO) with purity >99% (available from Nu Check Prep, Inc., P.O. Box 295, Elysian, MN 56028 USA).

D. Preparation of Standards

Trans Calibration Standard. Weigh, to the nearest 0.0001 g, $(0.3-x)$ g of TO, and x g of TE, into a 10 mL beaker, where x equals 0.0015, 0.0030, 0.0150, 0.0300, 0.0600, 0.0900, 0.1200 and 0.1500 g, in order to prepare 0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 40, and 50% *trans* calibration standards, respectively.

E. Calibration

For each *trans* standard, calculate the exact % *trans* expressed as the amount of TE as percent of total fat. Analyze each standard and determine the integrated area under the absorption band at 966 cm^{-1} as described in **G** and **H**.

Using a first-order regression analysis, determine the slope and intercept of the line which best fits the plot of the area of the *trans* band for all the *trans* standards (y axis) as a function of % *trans* (x axis).

Once a calibration curve has been established, it must be checked periodically to insure that it has not shifted.

F. Preparation of Test Samples

Solid fats must be gently melted and mixed. Test samples that appear cloudy due to the presence of water should be treated with anhydrous sodium sulfate until clear and filtered before removing the test portion for analysis.

G. Infrared Determination

Set up the FTIR operating parameters according to the manufacturer's recommendations for using an ATR cell with the following parameters: $1050\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$ range, 64-scan (or appropriate number of scans needed to meet peak-to-peak noise level and SNR requirements given in **B**), 4 cm^{-1} resolution, and triangular apodization functions (the most common weighting functions in FTIRs that suppress the magnitude of side lobes of interferograms). Conditions employed must be identical for test samples and calibration standards. The performance of FTIRs must be evaluated for wave number accuracy and noise level to insure that they are operating within the manufacturer's established specifications. For solid fats maintain ATR cell at 65 ± 2 °C.

Materials for measuring the reference background single beam spectrum are (a) TO for calibration standards, (b) the unfortified material for *trans*-fortified test samples, and (c) an appropriate *trans*-free material such as the refined bleached source oil for test samples.

Using a disposable pipet, transfer (without weighing) ca 50 μL of the neat (undiluted in any solvent) reference background material. Place the reference background material on the horizontal (faceup) ZnSe sampling surface of the ATR cell. The test portion must *completely* cover the horizontal surface of the crystal. Collect and save the single-beam spectrum to be used as background. Clean the crystal by wiping off the test portion with a disposable soft lint-free or low-lint tissue paper. In general, to minimize contamination, apply part of the next test portion then wipe it off the crystal before re-applying the ca 50 μL test portion for analysis.

Place ca 50 μL (without weighing) of the neat test portion on the horizontal ZnSe crystal. It must *completely* cover the surface of the crystal. Collect and save the single-beam spectrum of the test portion.

Ratio the test sample single-beam spectrum against that of the reference background, and convert to absorbance. Save the absorption spectrum. Repeat for other test samples.

H. Calculations

With the absorbance spectrum wavenumber scale expanded in the region from 1050 - 900 cm^{-1} , integrate (electronically) the area under the 966 cm^{-1} band between the limits 990 - 945 cm^{-1} . Calculate the linear regression equation for Area vs. % *trans* plot of the *trans* calibration standards.

Using the slope and intercept generated for *trans* standards, calculate the % *trans* for test samples, by substituting the value of the integrated area of the *trans* band in the following equation:

$$\text{Trans fat as TE, \%} = \frac{[\text{Area} - \text{Intercept}]}{\text{Slope}}$$

Report results to the nearest 0.1%.

TRADUCCIÓN AL IDIOMA ESPAÑOL

AOAC Official Method 2000.10

Determination of Total Isolated *Trans* Unsaturated Fatty Acids in Fats and Oils by ATR-FTIR.

Determinación del total de ácidos grasos insaturados aislados en grasas y aceites por medio de ATR-FTIR.

(Este método es aplicable a aceites y grasas naturales o procesadas que consisten de una cadena larga de ácidos grasos, ésteres y triglicéridos con \pm 5.0% niveles trans) ⁽³⁾

PRINCIPIO

En la mayoría de grasas y aceites vegetales de origen natural, los componentes insaturados contienen solamente aislados dobles enlaces de configuración cis. Estos enlaces dobles cis se pueden isomerizar a configuración trans durante su procesamiento y extracción, por oxidación, conversiones mientras su calentamiento y proceso de hidrogenación parcial. Las grasas animales y marinas pueden contener cantidades medibles de isómeros geométricos de ácidos grasos trans de origen natural. Los enlaces dobles trans aislados en los ácidos grasos de cadena larga, los ésteres metílicos de ácidos grasos los jabones y triacilgliceroles se pueden medir por espectroscopia infrarroja (IR). Una banda de absorción única con un máximo en la región de 966 cm^{-1} (μm 10.3), que se presenta por una vibración de la deformación de un enlace doble C-H trans, se exhibe en los espectro de todos los compuestos que contienen un grupo aislado trans. Esta banda no se observa en los espectros de los correspondientes a los ácidos grasos saturados e insaturado cis. La medida de la intensidad de esta banda de absorción bajo condiciones analíticamente controladas es la base para un método cuantitativo para la determinación de ácidos grasos trans totales. No se requiere que las muestras de ensayo, grasas y aceites se conviertan a Ésteres metílicos de ácidos grasos antes del análisis.

Este método es aplicable para grasas y aceites que contengan > 1% de la insaturación conjugada, materiales que contenga grupos funcionales que modifiquen la intensidad de la vibración de la deformación C-H de la doble banda trans, o en general a cualquier material que contenga constituyentes cuyos grupos funcionales que generan una banda de absorción específica, o que este suficientemente cerca de interferir con la banda de vibración de absorción trans asilada 966 cm^{-1} C=H de la doble banda.

APARATO ⁽³⁾

- a. Espectrómetro infrarrojo de Transformada de Fourier (FTIR): Capaz de hacer mediciones a una resolución de 4 cm^{-1} en la región del espectro cubriendo $1050\text{-}900\text{ cm}^{-1}$. El sistema de manipulación de datos tiene un instrumento que permite la conversión del espectro a absorbancia, la expansión de escala del eje de las x, y, la lectura de los numero de onda cerca de 1 cm^{-1} y absorbancia cerca de 0.0001 amu e integración del área bajo la banda de absorción a 966 cm^{-1} . El espectrómetro FTIR equipado con un detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS) de una excelente linealidad. En la ausencia de muestras de ensayo, una recolección de datos de 1 min a una resolución de 4 cm^{-1} debe ceder, entre $1050\text{-}900\text{ cm}^{-1}$, un nivel de ruido pico a pico de numero 0.0005 amu. La banda de 966 cm^{-1} para el estándar de Trielaidina 1%, debe ceder una señal de ruido > 10:1.
- b. Celda infrarroja de Reflectancia total atenuada (ATR): Equipada con un cristal de Selenio de Zinc. La capacidad de la celda ATR horizontal es $50\mu\text{L}$ y es capaz de mantener una temperatura constante de $62 \pm 2^\circ\text{ C}$.
- c. Balanza Analítica: Con capacidad de 60 g, capaz de medir $0.3\text{ g} \pm 0.0001\text{g}$.
- d. Pipetas de plástico descartables: Capaces de transferir $50\text{ }\mu\text{l}$ de la muestra del ensayo a la celda ATR.

e. Baño de vapor: Para derretir las grasas.

REACTIVOS ⁽³⁾

Estándares primarios: Trielaidina (TE) y Trioleina (TO) de pureza > 99.0%

PREPARACION DE ESTANDARES

Pesar cerca del 0.0001 g (0.3-x)g de Troleina, y x g de Trieladina, en un beaker de 10 mL, en donde x es igual a 0.0015, 0.0030, 0.0150, 0.0300, 0.600, 0.0900, 0.1200 y 0.1500g, para preparar 0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 40 y 50% estándares de calibración trans respectivamente.

CALIBRACION ⁽³⁾

Para cada estándar trans, calcular el porcentaje exacto trans expresado como la cantidad de TE como porcentaje de grasas totales. Analizar cada estándar y determinar el área integrada bajo la banda de absorción a 966 cm^{-1} .

Usando un análisis de regresión de primer orden, determinar la pendiente y el intercepto de la línea que mejor encaje en el área de las bandas trans de todos los estándares trans (eje de las y) en función de porcentaje trans (eje de las x). Una vez se haya establecido la curva de calibración debe ser revisada periódicamente para asegurar que no haya sido desplazada.

PREPARACION DE LA MUESTRA ⁽³⁾

Las grasas solidas deben derretirse y mezclarse correctamente. Si existe alguna muestra que aparezca nublada debido a la presencia de agua se deben tratar con sulfato de sodio anhidro, hasta que las veamos claras, filtrar el contenido antes de remover la porción que se ocupara para el análisis.

DETERMINACION INFRARROJA ⁽³⁾

Establecer los parámetros de operaciones de FTIR, de acuerdo a lo que recomienda el fabricante, para hacer uso de una celda ATR, con los siguientes

parámetros: rango de $1050-900\text{ cm}^{-1}$, 64 determinaciones (a un número apropiado de determinaciones que sean necesarias para satisfacer los niveles de ruido pico a pico), resolución de 4 cm^{-1} y funciones de apodización triangulares (las funciones de ponderación más comunes en FTIR que inhiben la magnitud de los lóbulos laterales de interferogramas). Deben utilizarse las mismas condiciones para las muestras del ensayo y para la calibración de los estándares. El rendimiento de FTIR debe ser evaluado para una longitud de onda exacta y nivel de ruido para asegurar que están operando dentro de las especificaciones que establece el fabricante. Para grasas sólidas debe mantenerse la celda ATR a temperatura de $62 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Los materiales para medir el fondo del espectro del haz de referencia son:

a. Troleína Para calibración, b. Material sin fortificar para muestras de ensayo trans-fortificadas, c. Un material apropiado libre de grasas trans, tales como el aceite refinado que es una fuente blanqueada.

Usando una pipeta desechable, transferir $50\mu\text{L}$ de material base de referencia ordenado. Poner el material de base de referencia en la celda ATR de Zn Se horizontal. La porción del ensayo debe cubrir completamente la superficie horizontal del cristal.

Recolectar y guardar todos los espectros de un solo haz para ser usados como base. Limpiar el cristal sacando la porción del ensayo con un papel suave de seda desechable. En general para minimizar la contaminación, aplicar parte de la próxima muestra y volver a limpiar el cristal antes de volver a agregar $50\mu\text{L}$ de la porción de la muestra para el análisis.

Colocar alrededor de $50\mu\text{L}$ de la porción de ensayo ordenada en el cristal horizontal de Zn Se. Debe cubrir completamente la superficie del cristal. Recolectar y guardar todos los espectros de un solo haz. Relacionar el espectro de un solo haz de la muestra de ensayo contra el espectro base de referencia y convertir a absorbancia. Guardar el espectro de absorción. Repetir con las otras muestras.

CALCULOS

Con la escala de longitud de onda del espectro de absorbancia, que se expande desde 1050-900 cm^{-1} , integrar el área bajo la banda 966 cm^{-1} entre los límites de 900-945 cm^{-1} . Calcular la ecuación de la regresión lineal para área vs % de área de la calibración de los estándares trans. Usando la pendiente y el intercepto generado por los estándares trans, calcular el porcentaje de % trans de las muestras de ensayo, sustituyendo el valor del área integrada de las bandas trans en la siguiente ecuación:

$$\text{Trans fat as TE, \%} = \frac{[\text{Area} - \text{Intercept}]}{\text{Slope}}$$

Report results to the nearest 0.1%.

ANEXO N°4

Procedimiento para operación del equipo espectrofotometría infrarrojo
IR- shimadzu affiity

PROCEDIMIENTO PARA OPERACIÓN DEL EQUIPO
ESPECTROFOTOMETRIA INRARROJO
IR- SHIMADZU AFFIITY

PROCEDIMIENTO⁽¹⁾

Análisis de Muestras de chocolate blanco

- Encender el espectrofotómetro IR y la computadora
- Inicializar el programa IR-Solution
- Conectar el computador por medio del programa con el espectrofotómetro IR utilizando el comando "**Measure**", comando "**Admin**", Inicializar. Dejar un tiempo de equilibrio de 15 minutos.
- Permitir que el programa registre las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.
- Dejar correr un barrido de las condiciones iniciales del equipo con la unidad ATR armada sin muestra como sigue: utilizar el comando "**Measure**", y presionar "**BKG**" para obtener el espectro blanco (Background).
- Tomar una cantidad de la muestra desde su empaque primario con una espátula y colocar en un tubo de boca ancha de 50 mL.
- Tratar la muestra de la siguiente manera: Colocar el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra en un baño de maría Precitherm y controlar con un termómetro que la temperatura se encuentre a $62^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, hasta la fundición y separación de las fases.
- Tomar una pequeña cantidad de muestra fundida con una pipeta o un gotero.
- Colocar la muestra distribuida uniformemente en el cristal de la celda y acoplarla en la unidad ATR del equipo Infrarrojo Shimadzu IR-Affinity.
- Analizar la muestra presionando el comando el comando "**Measure**", coleccionar la información de la muestra en el espacio "**coment**" y presionar

en "**Sample**" para obtener el espectro correspondiente para identificar la muestra de los 4000 a los 500 cm^{-1} .

- Limpiar la celda con un pañuelo suave y luego con un algodón impregnado de alcohol.
- Comparar los espectros obtenidos con el patrón positivo y negativo recabado.
- Observar si existe la presencia de la deformación del enlace C=C del isómero Trans que aparece cercano a los 966 cm^{-1} .

ANEXO N°5

Codificado de las cinco marcas de chocolate blanco con sus etiquetas respectivas.



Figura N°22. Marcas codificadas Azulejo y Garoto Talento

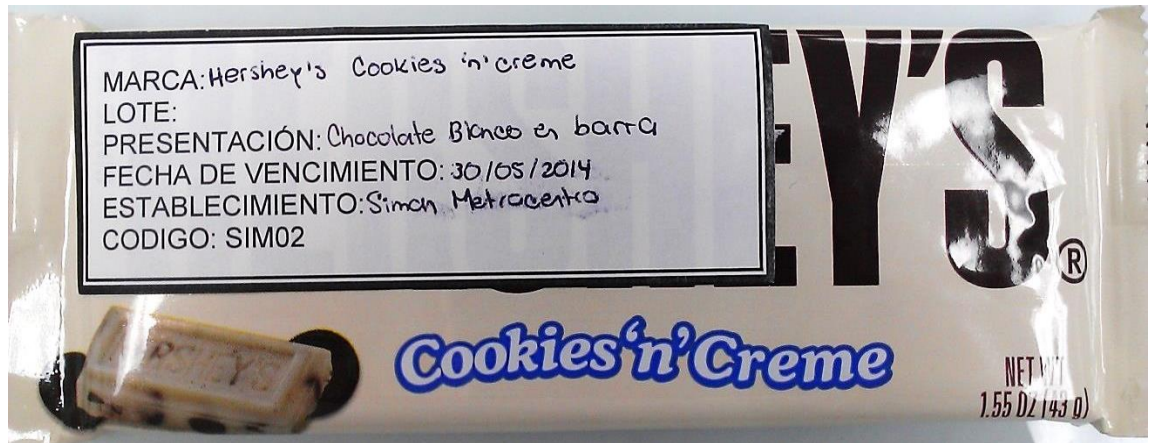


Figura N°23. Marcas codificadas Hershey's y Garoto Mundi.



Figura N°24. Marcas codificadas Shaw's Chocolate con semillas de marañón y almendra y Figuras de chocolate macizo.



Figura N°25. Marcas codificadas Hershey's Bliss y figuras de chocolate macizo.

ANEXO N°6

Pesada de muestras de chocolate blanco y del equipo Baño María, Precitherm PFV.



Figura N°26. Fotografía de analista y balanza analítica, donde se pesaron todas las muestras de Chocolate Blanco

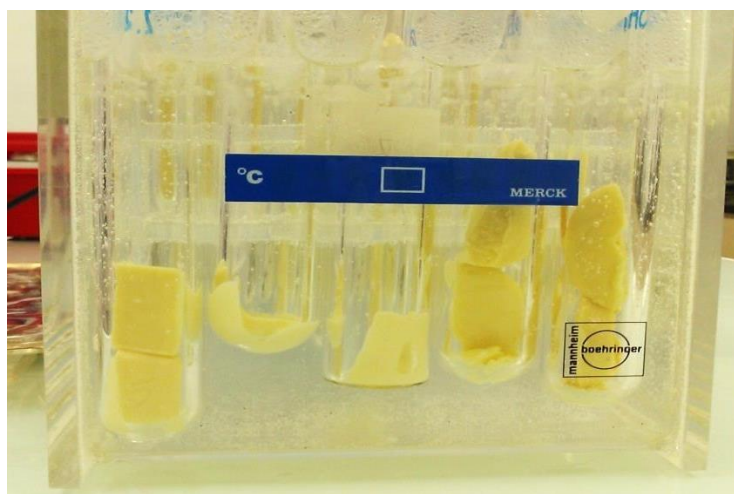


Figura N°27. Fotografía del Baño María, Precitherm PFV, utilizado para fundir las muestras y mantenerlas a una temperatura de $62 \pm 2^\circ\text{C}$.

ANEXO N°7

Celda de Reflectancia Total Atenuada en la que se realizaron los análisis de Chocolate Blanco y Soporte de celda.

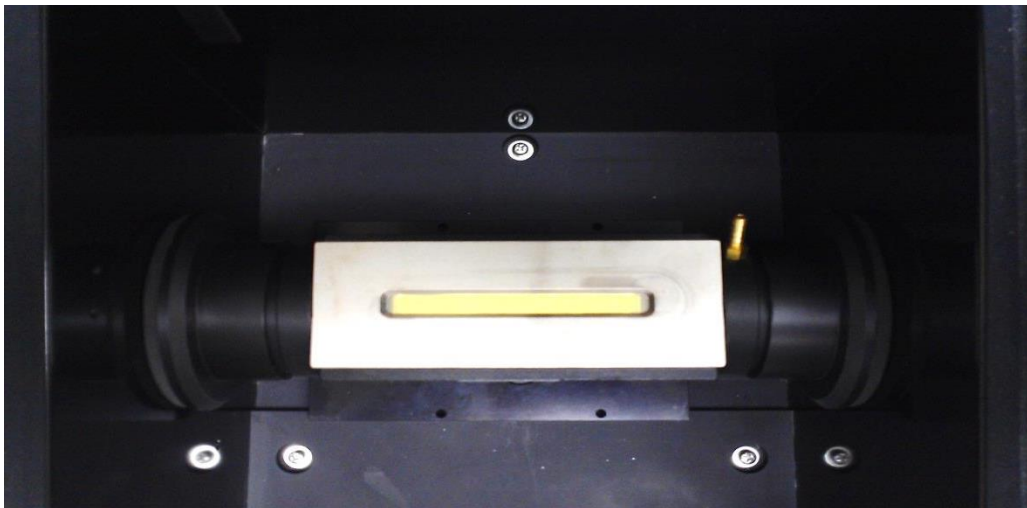


Figura N°28. Celda de Reflectancia Total Atenuada en la que se realizaron los análisis de Chocolate Blanco y Soporte de celda

ANEXO N°8

Especificaciones del espectrofotómetro de transformada de Fourier.

Especificaciones del espectrofotómetro de transformada de Fourier.



Figura No 29. Espectrofotómetro de Transformada de Fourier

Marca: Shimadzu

Modelo: Affinity

Este aparato cuenta con la mejor relación señal/ruido (S/N) en su clase* (30.000:1, acumulación de 1 minuto, medido de pico a pico, de 2.100 cm^{-1}), esto se debe a la incorporación de una fuente de luz de cerámica de alta energía, un detector DLATGS de alta sensibilidad y de temperatura controlada, un elemento óptico de alto rendimiento, y la optimización de los sistemas eléctrico y óptico, el IRAffinity-1 alcanza la mejor relación S/N en su clase. Una resolución máxima de 0,5 cm^{-1} , y dimensiones compactas. Además, el software de alta performance IRsolution, orientado a mejorar la operatividad, y los programas de soporte analítico (el programa de análisis de contaminantes y el programa japonés PharmaReport) facilitan el análisis y el procesamiento de datos.

Facilidad de mantenimiento asegurada por su desecador automático incorporado (JPN: registro de modelo de utilidad No.3116465) ya que el divisor de haces en los interferómetros de los instrumentos FTIR son susceptibles a la

humedad. Para mantener la estabilidad a largo plazo del interferómetro, el divisor de haces debe estar protegido del medio ambiente. En el IRAffinity-1, el interferómetro es hermético e incorpora un secador automático único.

Además de todas las nuevas características y funciones, tales como la mejor relación señal/ruido (S/N) en su clase, una resolución de 0,5 cm^{-1} , una alineación dinámica, y un interferómetro equipado con un secador automático, el IRAffinity-1 a su vez logra reducir aproximadamente en un 20% el área de instalación y el ancho del equipo (comparado con otros productos Shimadzu).

Shimadzu ha desarrollado programas de soporte analítico, con el objeto de permitir que los usuarios con poca experiencia en este tipo de análisis puedan utilizar sin dificultades la funcionalidad del IRAffinity-1. Estos programas son útiles para una gran variedad de escenarios de análisis en los que se utilizan espectros infrarrojos. Posee: programa pharmareport y programa de análisis de contaminantes.