

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

CUANTIFICACION DE TEOBROMINA EN PRODUCTOS DE CACAO
COMERCIALIZADOS EN GUATEMALA
POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION



JUAN MANUEL FUENTES OLIVA

Para optar al título de

QUIMICO FARMACEUTICO

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Guatemala, marzo de 1996.

DL.
06
71 (177)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	LICDA. ANA LUCRECIA FORTUNY DE ARMAS
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

ACTO QUE DEDICO:

A DIOS, merecedor de toda honra y gloria.

A MIS PADRES: Alfredo Fuentes y Juanita de Fuentes.

A MI ESPOSA: Astrid Asencio Arévalo de Fuentes.

A MIS HERMANOS: Vivi, Ivon, Luis y Flor de María.

A MIS AMIGOS,

Por el amor y apoyo que me brindaron en todo momento.

AGRADECIMIENTO

Licda. Azucena Lizama de Zúñiga, por su asesoría.

Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos
LUCAM. Sección Fisicoquímico de Alimentos.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San
Carlos de Guatemala.

Sra. Adilia Cifuentes. LUCAM.

Sr. Freddy Barrios. LUCAM.

INDICE

1. Resumen	1.
2. Introducción	3.
3. Antecedentes	5.
4. Justificación	9.
5. Objetivos	10.
6. Hipótesis	11.
7. Materiales y Métodos	12.
8. Resultados	21.
9. Discusión de Resultados	26.
10. Conclusiones	28.
11. Recomendaciones	30.
12. Referencias	31.
13. Anexos	34.

1. RESUMEN

En el presente trabajo se validó un método de análisis para la Teobromina en chocolates y productos que contienen cacao. Este análisis permite cuantificar la cantidad de cacao en polvo contenido en estos alimentos y puede ser utilizado para evaluar su calidad y a la vez detectar adulteraciones en los mismos.

El método seleccionado fue el de Kreiser y Martín, el cual utiliza Cromatografía Líquida de Alta Presión.

Se estableció que el cacao en polvo contiene de 2.35 a 2.67% de Teobromina. En los productos a base de cacao se determinó el contenido de cacao en polvo mediante el porcentaje de Teobromina obtenido por el método anterior. Se estableció que el cacao en polvo y los productos a base de cacao elaborados en Guatemala contienen mayor cantidad de Teobromina que los productos similares extranjeros. Todos los productos examinados contienen cacao, sin embargo, en un 53.33% no cumplen con lo declarado en las fórmulas reportadas. La norma COGUANOR NGO 34 159 para chocolates no establece la cantidad de cacao que debe contener un chocolate ni contempla el parámetro de teobromina para evaluar la calidad de estos productos. Por esta razón no es posible discriminar por las

leyendas de las etiquetas a productos finos de los productos populares.

Con base a los resultados obtenidos en este trabajo se recomienda a la Comisión Guatemalteca de Normas incluir dentro de la norma NGO 34 159, los límites de Teobromina que deben contener los chocolates y otros productos alimenticios derivados del cacao.

2. INTRODUCCION

En Guatemala la demanda, variedad y consumo de los chocolates ha aumentado considerablemente. Las Normas Generales de Calidad del Código Alimentario Español definen al chocolate como el producto obtenido por la mezcla íntima y homogénea de cantidades variables de cacao, azúcar y manteca de cacao y los clasifican como populares, finos y extrafinos según su contenido creciente de cacao y manteca de cacao. La norma COGUANOR NGO 34 159 para chocolates no permite una distinción entre productos finos y populares debido a que permite sustituir parcial o completamente la manteca de cacao, ingrediente fundamental y responsable, en buena parte, de las características del chocolate. El cacao en polvo contiene entre un 2.35 y 2.67% de Teobromina. Dicho valor permite calcular el contenido de cacao en polvo en estos alimentos y comprobar si los chocolates contienen la cantidad de cacao declarada en sus fórmulas.

La presente investigación se realizó con el propósito de establecer un método de análisis de Teobromina como medio de evaluación del grado de la calidad de los chocolates y así proporcionarle a la norma COGUANOR para chocolates NGO 34 159 una herramienta rápida, precisa y exacta para garantizar la calidad y evaluar adulteraciones en estos alimentos.

Guatemala es un país productor de cacao de gran calidad desde hace siglos, sin embargo no produce chocolates de calidad debido a las razones antes mencionadas y sobre todo a la falta de industrialización de su cacao y de técnicas que permitan garantizar la calidad de los mismos.

3. ANTECEDENTES.

La teobromina es un alcaloide y se encuentra en las semillas del cacao, Theobroma cacao L. (Esterculaceae) (11).

Químicamente la teobromina es una metilxantina y está estructuralmente relacionada con la cafeína, sobre la cual existen numerosos estudios para determinar su contenido en café, té y cocoas. Sin embargo hay poca información sobre el contenido de teobromina en cocoas y productos de chocolate. (14).

Los estudios sobre cuantificación de teobromina en cocoas se remontan hasta 1921, cuando Wadsworth publicó un protocolo de análisis, que fue tomado como método oficial por la Asociación de Químicos Analistas Oficiales (AOAC) en la 12a. edición en 1975. Sin embargo, este método tiene el inconveniente que no puede ser usado en muestras que contengan más de 12% de agentes edulcorantes. (7).

En 1978, Kreiser y Martin desarrollaron un método por Cromatografía Líquida de Alta Presión, el cual constituyó una mejora sobre el análisis de Wadsworth. Entre las ventajas podemos mencionar que puede aplicarse a todo tipo de muestras

de productos de cacao, permite una mejor recuperación del alcaloide, es rápido y sencillo y el contenido de teobromina en la muestra puede calcularse con gran exactitud. (7).

Los métodos de Kreiser y Martin facilitaron nuevos trabajos en productos chocolatados. Zoumas y colaboradores emprendieron un estudio en 1980, y reportaron los primeros datos del contenido de teobromina en cocoas. (14).

De Vries y colaboradores modificaron el método de Kreiser y Martin, el cambio consistió en eliminar el paso de desengrasado y postularon que el nivel de teobromina puede servir para calcular el contenido de cocoa en productos de cacao. La modificación se debió a que no hubo diferencia significativa con los resultados obtenidos desengrasando las muestras. Estos resultados reportan que la cocoa contiene 2.56+,- 0.19% de teobromina, expresado en materia seca. (5)

En un estudio posterior, Blauch y colaboradores también obtuvieron resultados que no eran estadísticamente diferentes en el contenido de teobromina de cocoas, con o sin grasa. (1).

El último estudio relacionado con este tema, fue emprendido por Craig y Nguyen en 1984 para determinar los niveles de teobromina y cafeína en una gran variedad de productos de cacao. (4).

Cuantificando la teobromina en los productos de cacao es posible comprobar adulteraciones en estos alimentos.

Los primeros chocolates comercializados consistían únicamente en cocoa sobre manteca de cacao. El sabor, aroma y consistencia se deben a estos dos componentes. Sin embargo, son muchos los aditivos y sustitutos que se incorporan a estos productos. En lugar de la manteca de cacao se utilizan otras grasas vegetales, la de coco por ejemplo, para la fabricación de chocolates. (12).

Muchos sustitutos de la cocoa y chocolate son patentados y su uso es permitido en algunos países. Por ejemplo, para colorear los chocolates se usa desde caramelo, tintes artificiales hasta negro de carbón. También se utilizan los siguientes aditivos: 1) gomas y almidón como espesantes, 2) aceite de coco como sustituto de la manteca de cacao, 3) Diacetilo sintético para imitar el aroma de la manteca de cacao y 4) edulcorantes sintéticos.

También se permite agregar saborizantes naturales y/o artificiales (como vainilla, etilvainillina, etc.), especias, nueces, malta y otras sustancias. (8). Incluso en las normas guatemaltecas se permite sustituir parcial o completamente la manteca de cacao en los chocolates. (3). Sin embargo las normas internacionales indican que como chocolate se conoce al producto que se obtiene por la mezcla íntima y homogénea de cantidades variables de cacao, azúcar y manteca de cacao, clasificándose como populares, finos y extrafinos según su contenido creciente de cacao y manteca de cacao. (9). Así mismo, en la norma COGUANOR para chocolates no se incluye la cuantificación de teobromina como método para reconocer la presencia de cacao en este tipo de productos alimenticios.

4. JUSTIFICACION.

Siendo Guatemala un país productor de cacao en gran cantidad, debería ser posible la fabricación de chocolates de excelente calidad, sin embargo se comercializan imitaciones de chocolate que contienen poca cantidad de cacao y adulterantes, lo cual constituye un engaño para el consumidor.

Las normas guatemaltecas, COGUANOR NGO 34 159 para chocolates, establecen que un producto a base de cacao es aquel que se prepara a partir de cacao (utilizándose la cocoa como materia prima en la mayoría de los casos), sin embargo no es obligatorio que contengan grasa de cacao, ya que estas normas también establecen que se pueden usar grasas láuricas como sustitutos de la grasa de cacao. De manera que en Guatemala se comercializan muchas imitaciones y que sin embargo cumplen con la actual norma COGUANOR para chocolates.

En las normas no existe un método que permita evaluar la cantidad de cacao en un producto chocolatado que no contenga grasa de cacao. Sin embargo, la teobromina, como componente característico del cacao, permite establecer la presencia de cocoa, por lo que su cuantificación es determinante en la calidad del producto.

5. OBJETIVOS.

5.1. GENERALES:

- 5.1.1. Evaluar la calidad de los chocolates comercializados en Guatemala.
- 5.1.2. Cuantificar el contenido de teobromina en cocoas y productos de cacao por Cromatografía Líquida de Alta Presión.

5.2. ESPECIFICOS:

- 5.2.1. Establecer un método de análisis para determinar el contenido de Teobromina como medio de evaluación del grado de calidad de los productos de cacao.
- 5.2.2. Demostrar que los límites de teobromina deben incluirse en las normas guatemaltecas para este tipo de productos alimenticios.
- 5.2.3. Determinar, con base en la cuantificación de Teobromina, si existen adulteraciones en los productos de este tipo que son comercializados en Guatemala.

6. HIPOTESIS.

- 6.1. El contenido promedio de teobromina en las cocoas comercializadas en Guatemala se encuentra en el rango de 2.37% a 2.75%, determinado por Cromatografía Líquida de Alta Presión sobre una base libre de humedad.

- 6.2. La cantidad de teobromina contenida en productos a base de cacao permite establecer la cantidad de cocoa presente en estos productos en forma sencilla, reproducible, exacta y precisa.

7. MATERIALES Y METODOS.

7.1. Universo de Trabajo:

Muestras de cocoas y productos de cacao comercializados en Guatemala, obtenidas con diferentes proveedores del país.

7.2. Medios.

7.2.1. Recursos Humanos:

Autor: Juan Manuel Fuentes Oliva.

Asesor: Licda. Azucena Lizama de Zúñiga.

Consultor: Dr. Jorge Zúñiga.

7.2.2. Recursos Físicos:

- Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos. LUCAM.

7.2.3. Recursos Materiales.

Materiales y Equipo:

- cristalería.
- balanza analítica.
- agitador magnético.
- papel filtro Whatman # 1.

- filtros de nylon de 0.45 um.
- jeringa de vidrio de 5 mL.
- Cromatógrafo Líquido:
 - Bomba: Beckman 114M
 - Detector de Absorbancia: Kratos Espectroflow 757.
 - Registrador: Hewlett Packard 3392A.

Reactivos:

- Agua destilada para cromatografía líquida de alta presión (CLAP)
- Metanol grado CLAP.
- Acido Acético grado reactivo.
- Teobromina Estandar SIGMA.

7.3. Procedimiento:

Determinación de Teobromina en productos de cacao por Cromatografía Líquida de Alta Presión. (CLAP).

7.3.1. Preparación de las Muestras:

7.3.1.1. Cocos:

Pesar aproximadamente 3.0 g de cocoa y secar a 100 grados centígrados por 8 horas. Pesar 0.125 g de la muestra

seca, agregar 30 mL de agua caliente (100 grados centígrados), agitar con barra magnética por 30 minutos. Cuando la solución se encuentre a temperatura ambiente, aforar a 50 mL con agua destilada. Diluir 1 mL en 25 mL y filtrar a través de papel Whatman # 1 y luego filtrar una porción de esta solución a través de filtro de nylon de 0.45 μ m. La solución está lista para inyectar en cantidad de 20 μ L en el cromatógrafo líquido.

7.3.1.2. Productos de cacao:

Pesar una cantidad suficiente de la muestra y triturarla hasta que esté completamente homogénea. Pesar aproximadamente 1.0 g, agregar 80 mL de agua destilada caliente, agitar y cuando la solución esté a temperatura ambiente, aforar a 100 mL con agua destilada. Filtrar e inyectar en cantidad de 20 μ L.

7.3.1.3. Preparación del estándar de Teobromina.

Pesar 0.025 g de teobromina, disolver en 50 mL de agua destilada caliente (disolver en baño de ultrasonido si es necesario) dejar enfriar y aforar a 100 mL con agua destilada. Medir 1 mL de la solución anterior y aforar a 50 mL con agua destilada. 2 mL de esta solución se aforan a 10 mL. Esta será la solución de trabajo y tiene una concentración aproximada de 0.001 mg/mL. Esta solución es estable por tres semanas.

7.3.1.4. Condiciones Cromatográficas:

Columna: u Bondapack C18.

Fase Móvil: agua:ácido acético:metanol

(79: 1: 20)

Longitud de onda de detector: 280 nm.

Sensibilidad del detector: 0.05 unidades.

Flujo de fase móvil: 1 mL/min.

Presión: 2.00 Kpsi.

Velocidad de la carta: 0.3 cm/min.

7.3.1.5. Cálculos:

Porcentaje de Teobromina= %T

$$\%T = \frac{Am * Cst * VOL * Dil * 0.1429}{Ast * Wm} =$$

Ast * Wm.

Donde:

Am = área del pico de la muestra.

Cst= concentración del estándar en mg/mL.

Vol= volúmen al que se afora la muestra (100mL)

Dil= dilución de la muestra.

Ast= área del pico del estándar

Wm = peso de la muestra seca en gramos.

0.1429= constante de conversión de mg a g y de recuperación de la columna.

7.3.1.6. Inyección en el Cromatógrafo Líquido.

Primero se inyectan 20 uL del estándar de teobromina y se obtiene el cromatograma. Luego se inyectan 20 uL de muestra #1 y se obtiene su cromatograma. Se hace lo mismo con dos muestras mas. Este procedimiento

se repite hasta terminar con todas las muestras, inyectar estándar luego de la inyección de tres muestras.

7.4. Diseño de la Investigación.

7.4.1. Diseño de Muestreo:

7.4.1.1. Cocoas.

Se utilizó con un muestreo estratificado, en el cual las marcas de las cocoas comercializadas en el país fueron agrupadas en estratos, y el número de muestras de cada estrato (marca), estuvo de acuerdo al volumen de venta establecido en diferentes suplidores para cada marca de cocoa. Se analizarón un total de 56 muestras.

7.4.1.2. Productos de cacao.

Se trabajó con un muestreo por conveniencia con un número de muestras "n" igual a 75, de manera que se pudiera inferir sobre la calidad de los productos.

7.4.2. Análisis de Datos.

7.4.2.1. Cocoas.

Para la estimación del contenido de teobromina en cocoas, con un intervalo de confianza (IC) de 95% y un límite de error (LE) de 0.05%, se analizaron 56 muestras, obtenidas por conveniencia en cada suplidor.

7.4.2.2. Productos de cacao.

El análisis de los datos en este caso fue descriptivo con respuesta binomial: el porcentaje de cocoa determinado en la investigación cumple o no con lo declarado en la fórmula por el fabricante, al analizar un número de 75 muestras para poder inferir la respuesta.

7.5. Validación del Método.

La validación de la precisión, sensibilidad y exactitud del método se realizó de la siguiente forma:

7.5.1. Precisión.

Como medida de precisión se determinó el coeficiente de variación para la cuantificación de teobromina a 3 concentraciones diferentes:

- A) Concentración elevada: 0.00300 mg/mL (5 determinaciones).
- B) Concentración intermedia: 0.00175 mg/mL (5 determinaciones).
- C) Concentración baja: 0.00040 mg/mL. (5 determinaciones).

En los tres casos el Coeficiente de Variación debe ser menor de 5% e idealmente $CVa=CVb=CVc$.

6.5.2. Exactitud.

Como medida de exactitud se determinó el porcentaje de recuperación que tiene el método. Se trabajó con muestras preparadas de tal manera que se conocía la cantidad de teobromina que contenían y a las mismas tres concentraciones y con el mismo número de

determinaciones que para la validación de la precisión. Luego se calcularon los contenidos reales y teóricos de las muestras utilizando un estándar de concentración conocida. La recuperación del método debe ser mayor del 90% y menor del 105%.

7.5.3. Sensibilidad.

El método es sensible si es capaz de detectar una concentración de 0.0004 mg/mL que es la concentración más baja del alcaloide que se puede encontrar en un producto de cacao. En todos los casos, el método se trabajó dentro de las concentraciones en las cuales la cuantificación de teobromina era lineal y cumplía con la ley de Beer.

8. RESULTADOS

8.1. VALIDACION DEL METODO:

8.1.1. Precisión:

CUADRO No. 1

Concentración de Teobromina (mg/ml)	Número de Determinaciones	Coefficiente de Variación (CV 5%)
1. 0.0032	5	0.04%
2. 0.0018	5	0.02%
3. 0.0004	5	0.05%

8.1.2. Exactitud:

CUADRO No. 2

Concentración de Teobromina Real (mg/ml)	Conc. de Teobromina determinada por el Método (mg/ml)	Porcentaje de Recuperación (90-105%)
1. 0.0032	0.0031	96.88
2. 0.0018	0.0018	100.00
3. 0.0004	0.0004	100.00

8.1.3 Sensibilidad:

CUADRO No. 3

Concentración mínima de Teobromina detectada por el Método	Concentración mas baja de Teobromina encontrada en un producto de cacao
0.00026 mg/g.	0.00040 mg/g.

8.2. CONTENIDO PROMEDIO DE TEOBROMINA EN CACAO EN POLVO COMERCIALIZADO EN GUATEMALA:

CUADRO No. 4

CACAO EN POLVO.	PORCENTAJE DE TEOBROMINA
TEORICO	2.56 ± 0.19 %
Marca Nacional A	2.70 ± 0.08 %
Marca Nacional B	2.51 ± 0.27 %
Marca Nacional C	2.60 ± 0.04 %
Marca Extranjera A	2.43 ± 0.08 %
Marca Extranjera B	2.47 ± 0.09 %
Marca Extranjera C	2.35 ± 0.08 %
Promedio.	2.51 ± 0.16 %

8.2.1. Comparación entre Cacao en polvo Nacional y
Extranjero:

CUADRO No. 5

CACAO EN POLVO	% TEOBROMINA
Nacionales	2.61 \pm 0.19 %
Extranjeros	2.42 \pm 0.10 %

8.3. CONTENIDO DE CACAO EN POLVO EN PRODUCTOS DE CACAO:

8.3.1. Productos Nacionales: (Cumple= +, No Cumple= -)

CUADRO No. 6

MARCAS	PORCENTAJE DE CACAO EN POLVO.		RESULTADO
	% REAL	% TEORICO	
A	10.20	20.00	-
B	2.02	2.00	+
C	18.70	15.00	+
D	23.45	22.00	+
E	0.95	1.00	+
F	1.10	1.00	+
G	0.22	1.00	-
H	0.36	3.00	-
TOTAL=8	x = 7.12%	x = 8.12%	cumple 62.50%

8.3.2. Productos Extranjeros:

CUADRO No. 7

MARCAS	PORCENTAJE DE COCOA		RESULTADO
	% REAL	% TEORICO	
A EUROPEA	4.95	5.00	+
B EUROPEA	2.40	2.00	+
C C.A.	0.42	0.80	-
D C.A.	0.22	0.80	-
E N.A.	0.09	0.50	-
F S.A.	0.43	0.80	-
G S.A.	0.23	0.80	-
TOTAL = 7	x = 1.25	x = 1.53	cumple 28.57%

Cumple = + No Cumple = -

8.3.3. Productos Nacionales y Extranjeros.

CUADRO No. 8

TOTAL MARCAS	CUMPLE	NO CUMPLE
15	46.67%	53.33%

8.3.4. Contenido de Cacao en polvo.

CUADRO No. 9

PRODUCTOS	% DE CACAO.
NACIONALES	7.12%
EXTRAJEROS	1.25%

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Los datos obtenidos en la validación del método (cuadros 1, 2 y 3) demuestran que éste es suficientemente sensible, preciso y exacto para la determinación de Teobromina en cualquier producto de cacao, además de ser un método fácil, rápido y económico. Los cromatogramas se obtienen rápidamente (no más de 12 minutos). A pesar de que los chocolates, galletas, helados y otros productos de cacao contienen muchos aditivos (colorantes, saborizantes, preservantes, edulcorantes y emulsificantes), ninguna de estas sustancias interfiere con la obtención de un pico de teobromina bien definido y medido a una longitud de onda de 280 nm. A esta longitud de onda ningún aditivo alimentario permitido en estos productos interfiere con la determinación del alcaloide. Por lo tanto este método constituye una herramienta importante para el control de la calidad de este tipo de alimentos.

Las cocoas elaboradas en Guatemala contienen mayor cantidad del alcaloide que las cocoas extranjeras. Sin embargo, no importando la calidad de la cocoa que se utilice, en un 53.33% los productos a base de cacao no contienen la cantidad de cacao que declaran en sus fórmulas o

etiquetas, y ésto probablemente se deba a que en Guatemala no existe una norma que controle y garantice la cantidad de cacao que deben llevar estos alimentos; de manera que en el país se consumen productos a base de cacao que en su mayoría contienen grandes cantidades de colorantes y saborizantes artificiales que imitan el sabor del chocolate.

Es importante mencionar que las adulteraciones en productos nacionales no se encontraron a nivel del contenido de Teobromina sino a nivel de sustitución de la manteca de cacao y a ello se debe probablemente que deban utilizar mayor cantidad de cacao que los productos extranjeros (7.12% contra 1.25%).

Con base a lo expuesto anteriormente queda demostrado que el método de Kraiser y Martín permite evaluar el grado de calidad de cualquier producto a base de cacao en función de su contenido de Teobromina y que por lo tanto la determinación de los límites de Teobromina debe incluirse dentro de la norma COGUANOR como un parámetro específico para detectar adulteraciones en este tipo de alimentos.

10. CONCLUSIONES

- 10.1. El cacao en polvo comercializado en Guatemala contiene 2.51% de Teobromina (2.35 a 2.67%), por lo que se encuentra dentro del rango establecido en la literatura científica.
- 10.2. El cacao en polvo producido en Guatemala contiene mayor cantidad de Teobromina ($2.61 \pm 0.19\%$) que el extranjero ($2.42 \pm 0.10\%$).
- 10.3. Las variaciones encontradas durante la investigación se detectaron a nivel de la sustitución de la grasa y no en el contenido de cacao.
- 10.4. La norma COGUANOR NGO 34 159 para chocolates no establece la cantidad de cacao que deba contener un producto a base de cacao, por lo que en Guatemala pueden contener cualquier cantidad, desde un 0.09% a un 23.45% (expresado como % de cacao en polvo).
- 10.5. Un 53.33% de los productos a base de cacao comercializados en Guatemala que se analizaron en esta investigación no cumplen con la cantidad de cacao declarada en sus fórmulas y las cantidades encontradas

son mucho menores.

10.6. En los chocolates extranjeros se encontró menor contenido de Teobromina (cacao) debido a que sus formulaciones declaran contenidos altos de manteca de cacao.

10.7. El método de Kraiser y Martín es preciso, sensible y exacto para la cuantificación de Teobromina en todo tipo de alimentos a base de cacao.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Utilizar la modificación del método de Kraiser y Martin de HPLC para la cuantificación de Teobromina en productos a base de cacao.
- 11.2. Incluir los límites de Teobromina y su cuantificación en la Norma NGO 34 159 para chocolates como parámetro para evaluar la calidad de estos alimentos.
- 11.3. Realizar otras investigaciones para relacionar el contenido de teobromina (cacao) con el de grasa de cacao, ya que la calidad de estos alimentos está en función de estos dos ingredientes.
- 11.4. La industria guatemalteca de chocolates debería incorporar a sus formulaciones mayor grasa de cacao y reducir el uso de otros aditivos para lograr una producción nacional de chocolates de buena calidad.

12. REFERENCIAS

- 12.1. Blauch JL, Tarka SM, HPLC Determination of Caffeine and Theobromine in Coffee, Tea, and Instant Hot Cocoa Mixes. J. Food Sci. 1983; 48: 745-750.
- 12.2. Chatt E. Cocoa; Cultivation Processing and Analysis. New York: Interscience Publishers Inc., 1953, 580 p.
- 12.3. Comisión Guatemalteca de Normas. Chocolates: Especificaciones. Proyecto COGUANOR,NGO 34 159. Guatemala:1986. 11 p.
- 12.4. Craig WJ, Nguyen T, Caffeine and Theobromine Levels in Cocoa and Carob Products. J. Food Sci. 1984; 49: 302-305.
- 12.5. De Vries JW, Johnson KD, Heroff JC. HPLC Determination of Caffeine and Theobromine Content of Various Natural and Red Dutched Cocoas. J. Food Sci. 1981; 46: 1968-1969.

- 12.6. Jacobs M. The Chemical Analysis of Foods and Food Products. New York: D. Van Nostrand Company, Inc. 1938. 540 p.
- 12.7. Kreiser WR, Martin RA. High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Theobromine and Caffeine in Cocoa and Chocolate Products. J. Assoc. off Anal. Chem. 1978;61: 1424-1427.
- 12.8. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations. 21. USA: National Archives and Records Administration. 1992.
- 12.9. Ministerio de Salud y Consumo. Código Alimentario Español y su Desarrollo Normativo. Reglamentaciones Técnico Sanitarias RTS, Normas Generales de Calidad NGC. "Alimentos Estimulantes y Derivados". España, 1975. Vol. XVII. p.1-13.
- 12.10. Pearson D. The Chemical Analysis of Foods. 7a. ed. New York: Chemical Publishing Co. Inc., 1976. 530 p.

- 12.11. The Merck Company Inc. The Merck Index. 11 ed. USA: 1989.
- 12.12. Urquhart DH. Cocoa. 2nd. ed. New York: John Wiley & Sons Inc., 1961. 346 p.
- 12.13. Williams S. Official Methods of Analysis of the Association Of Analytical Chemists. AOAC. 14th. ed. USA: 1984.
- 12.14. Zoumas B, Kreiser WR, Martin RA. Theobromine and Caffeine Determination for HPLC. J. Food. Sci. 1980; 45:314-316.

13. ANEXOS.

INDICE

ANEXO No.1. GLOSARIO.

ANEXO No.2. ADITIVOS ALIMENTARIOS PERMITIDOS EN
PRODUCTOS A BASE DE CACAO (CHOCOLATES)

ANEXO No.3. CROMATOGRAMAS.

ANEXO No.1.

GLOSARIO.

1. Cacao: son los frutos de las variedades de la especie Theobroma cacao. (Esterculaceae). (3).
2. Pasta de cacao o licor de chocolate, es el producto obtenido por molturación de cacao descascarillado y desgerminado, de calidad sana y comercial. Debe contener un 50% de manteca de cacao. (3).
3. Manteca de cacao: es la materia grasa extraída ya sea directamente de las semillas de cacao descascarilladas y desgerminadas o bien, de la pasta de cacao, por procedimientos mecánicos. (3).
4. Cacao en polvo: producto obtenido por pulverización de la pasta de cacao parcialmente desengrasada por procedimientos mecánicos, y cuyo contenido de manteca de cacao es menor o igual que 12%, (3).
5. Cobertura amarga de chocolate o chocolate amargo: es el sólido homogéneo o el producto semiplástico que se obtiene por una molienda fina de semillas de cacao descascarilladas y desgerminadas, a la cual se le puede agregar manteca de cacao y cacao en polvo. (3).
6. Chocolate simple: es el producto homogéneo obtenido por un proceso adecuado de manufactura a partir de una mezcla de semillas de cacao, con pasta de cacao, cacao en polvo, azúcar y con o sin manteca de cacao. (3).

7. Cobertura de chocolate simple: es el chocolate simple apropiado para propósitos de cobertura. (3).
8. Chocolate adicionado de saborizantes, es el chocolate simple adicionado de sustancias aromáticas tales como: canela, vainilla y otras permitidas. También puede llevar otros aditivos alimentarios permitidos. (3).
9. Chocolate de leche: producto homogéneo que se obtiene por un proceso adecuado de manufactura a partir de semillas de cacao, pasta decacao, cacao en polvo, con azúcar y sólidos de leche y con o sin adición de manteca de cacao. (3).
10. Chocolate de leche compuesto: es el chocolate de leche al que se han incorporado pasas, nueces, almendras, cereales inflados u otros similares. (3).
11. Cobertura de chocolate de leche: es el chocolate de leche apropiado para propósitos de cobertura. (3).
12. Chocolate relleno: es la cobertura de chocolate rellena de cualquiera de los siguientes productos: café, miel, licor de diferentes sabores, frutas secas, frutas frescas y otros similares. (3).
13. Chocolate "fondant", tipo suizo o chocolate blando: chocolate preparado con un mínimo de 30% de manteca de cacao, la cual es responsable de su bajo punto de fusión. (3).

14. Chocolate blanco o claro: es el producto preparado con manteca de cacao, azúcar, leche en polvo o leche condensada. (3).

ANEXO No. 2.

ADITIVOS ALIMENTARIOS PERMITIDOS EN PRODUCTOS A BASE DE CACAO

Además de la materia prima procedente de las semillas de cacao como: pasta de cacao, torta de cacao (residuo resultante de la obtención de la manteca de cacao), manteca de cacao y cacao en polvo (cocoa); se permite usar los siguientes aditivos alimentarios:

1. Edulcorantes nutritivos: Se podrán agregar los siguientes edulcorantes naturales: azúcar refinado, azúcar blanco sin refinar, glucosa, dextrosa anhidra, ya sea en forma aislada o mezclada. (3).
2. Colorantes artificiales: se permitirá su uso, pero únicamente en los rellenos de los chocolates. Los colorantes artificiales permitidos son: FD & C azul # 1 y # 2, FD & C amarillo # 5 y # 6, FD & C rojo # 2, # 3 y # 40. (3).
3. Sabores naturales y/o artificiales: se podrán agregar sabores naturales y/o artificiales en cantidades suficientes para lograr el efecto deseado, no permitiéndose la adición de saborizantes que imiten el sabor del chocolate, de la leche o de la mantequilla. (3)
4. Emulsificantes y estabilizadores: se podrán agregar agentes emulsificantes y estabilizantes tanto en el chocolate como en los rellenos. La lecitina, el fosfato de

amonio y los mono y diglicéridos de ácidos grasos con derivados de fosfato monosódico son algunos ejemplos de estos aditivos. (3).

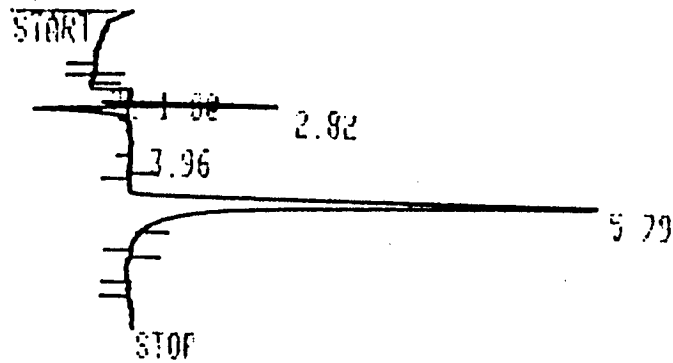
5. Agentes antioxidantes: galato de propilo, octilo, dodecilo, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y cualquier mezcla de ellos. (3).
6. Sustancias conservadoras: se permite el uso de preservantes como: ácido sórbico y sus sales de sodio, potasio y calcio (no más de 0.1%); ácido benzoico y sus sales de sodio o potasio (no más de 0.1%) y propionato de calcio (no más de 0.2%) (3).
7. Materiales de relleno: nueces, coco, miel, café, frutas, licores y cualquier otro producto con la condición de que el chocolate terminado cumpla con las características y especificaciones indicadas en la norma COGUANOR respectiva. (3).
8. Sustitutos y equivalentes grasos de la manteca de cacao: se podrán emplear sustitutos y equivalentes grasos láuricos y no láuricos para reemplazar parcial o completamente a la manteca de cacao. (3).
9. Según el Código de Regulaciones Federales (CFR) de los Estados Unidos, la cocoa es el alimento preparado por pulverización del material que se obtiene luego que se extrae la mayor parte de la manteca de cacao de las semillas, puede ser sazonado o condimentado con alguno de

los siguientes ingredientes o mezclas de ellos: especies molidas (como la canela), vainilla, aceites, oleorresinas o saborizantes naturales, vainillina, etilvainillina, sal, pero cualquier ingrediente deberá ser declarado convenientemente en la etiqueta del producto. (8).

ANEXO No.3

CROMATOGRAMAS.

Cromatograma 1.
 Standar de Teobromina.

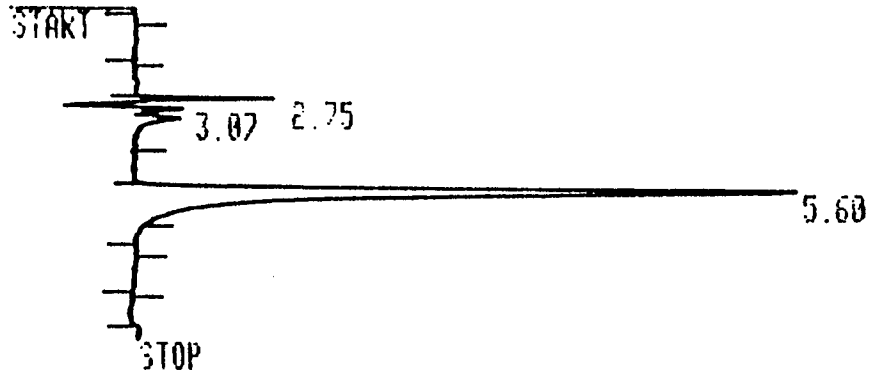


RUN # 8 JUL/01/95 12:54:56
 WORKFILE ID: C
 WORKFILE NAME:

RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
2.82	11658	BP	0.095	8.424
3.96	43526	PV	1.472	31.451
5.79	83208	PB	0.282	60.125

TOTAL AREA= 138390
 MUL FACTOR= 1.0000E+00

Cromatograma 2.
Producto de Cacao Nacional.

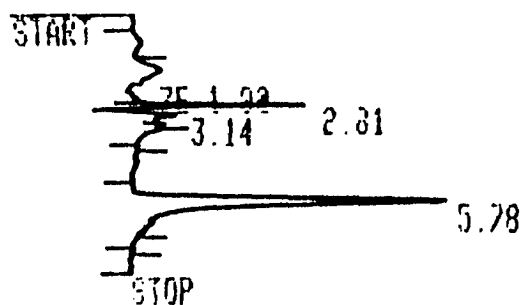


RUN # 4 JUL/08/95 12:18:49
WORKFILE ID: B
WORKFILE NAME:

RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
2.75	11234	BP	0.105	7.157
3.07	11149	PV	0.165	7.193
5.60	134580	BB	0.322	85.740

TOTAL AREA= 156960
MUL FACTOR= 1.0000E+00

Cromatograma 3.
 Producto de Cacao Extranjero.



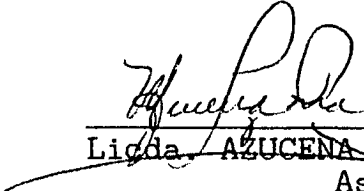
RUN # 14 JUL/01/95 14:28:06
 WORKFILE ID: C
 WORKFILE NAME:

RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
2.81	18392	BP	0.089	13.822
3.14	7361	PV	0.203	9.791
5.78	57430	PB	0.290	76.387


TOTAL AREA= 75133
 MUL FACTOR= 1.0000E+00



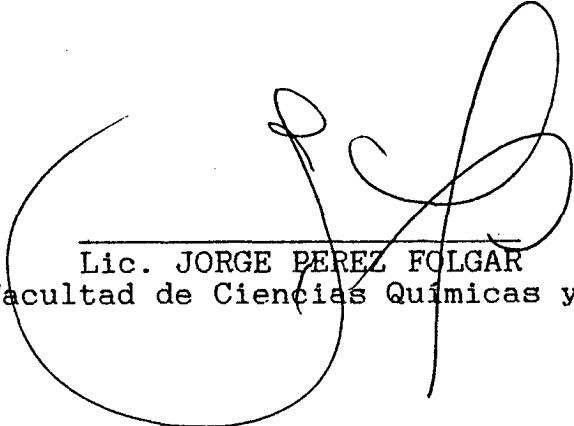
JUAN MANUEL FUENTES OLIVA
Autor



Licda. AZUCENA LIZAMA DE ZUNIGA.
Asesor



Licda. BEATRIZ BATRES DE JIMENEZ
Directora de la Escuela de Química Farmacéutica



Lic. JORGE PEREZ FOLGAR
Decano Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia