



## **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS TABASCO**

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**EVALUACIÓN MEDIANTE LA TECNOLOGÍA NIRS DE LOS  
INSUMOS, SU TRANSFORMACIÓN Y EL CHOCOLATE  
ELABORADO CON CACAO (*Theobroma cacao L.*) DE TABASCO**

CLARA INÉS PONS BURELO

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**H. CÁRDENAS, TABASCO**

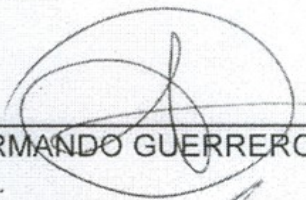
**2010**

La presente tesis titulada: **EVALUACIÓN MEDIANTE LA TECNOLOGÍA NIRS DE LOS INSUMOS, SU TRANSFORMACIÓN Y EL CHOCOLATE ELABORADO CON CACAO (*Theobroma cacao L.*) DE TABASCO**, realizada por la estudiante: **CLARA INÉS PONS BURELO**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN  
PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO**

**CONSEJO PARTICULAR**


**CONSEJERO:**

  
\_\_\_\_\_  
DR. ARMANDO GUERRERO PEÑA

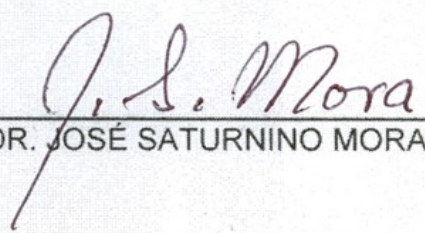
**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
DR. VÍCTOR CORDOVA AVALOS

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
DR. ADOLFO BUCIO GALINDO

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
DR. JOSÉ SATURNINO MORA FLORES

H. Cárdenas, Tabasco a 22 de Septiembre de 2010

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por la gran fortaleza que me ha brindado para culminar satisfactoriamente otra meta propuesta en mi vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, por permitirme realizar mis estudios de Postgrado dentro del programa de Producción Agroalimentaria en el Trópico.

A la línea 12 de "Agregación de Valor" del Colegio de Postgraduados por los apoyos brindados para esta investigación.

Al Dr. Armando Guerrero Peña, por compartir sus conocimientos, experiencia y profesionalismo que han fortalecido mi formación académica.

Al Dr. Víctor Córdova Avalos, por sus aportaciones de comentarios y experiencias en el tema de cacao en Tabasco.

Al Dr. Adolfo Bucio Galindo, por la aportación de sus comentarios en la revisión de este trabajo.

Al Dr. José Saturnino Mora Flores, por el apoyo brindado a través de la línea de agregación de valor en la realización de este proyecto.

Al Ing. Alcides jefe de control de calidad de la Industrializadora de Cacao de Tabasco (INCATABSA), por su asesoría durante mi estancia por más de 10 semanas durante la experimentación.

A todos mis profesores por haber ampliado mis conocimientos hacia otros campos de estudio y por su experiencia y profesionalismo.

A mis compañeros por su amistad.

## **DEDICATORIA**

**A mis hijos**

Inés y Ulises

A quienes amo mucho y son mi motivación para lograr culminar las metas propuestas en mi vida.

## CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	v
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	3
2.1. Objetivos .....	3
2.2. Hipótesis.....	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
3.1. Producción de Cacao .....	4
3.2. La Calidad en Chocolates .....	6
3.3. Normatividad .....	7
3.4. Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIRS) .....	8
3.4.1. Uso y aplicaciones .....	9
3.4.2. Interpretación de espectros.....	9
3.5. Quimiometria .....	11
3.5.1. Pretratamiento de los datos .....	12
3.5.2. Análisis no supervisados.....	14
3.5.3. Modelo de calibración .....	16
4. LITERATURA CITADA .....	19
CAPITULO I. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS CHOCOLATES DE MESA Y GOLOSINA COMERCIALIZADOS EN TABASCO, MÉXICO .....	24
RESUMEN .....	25
ABSTRACT .....	26
1.1. INTRODUCCIÓN.....	27
1.2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	29

1.2.1. Materiales.....	29
1.2.2. Parámetros fisicoquímicos .....	30
1.2.3. Análisis estadístico.....	30
1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
1.3.1. Chocolate de mesa .....	31
1.3.1.1. Proteína .....	31
1.3.1.2. Ceniza.....	33
1.3.1.3. Humedad .....	35
1.3.1.4. Grasa .....	36
1.3.2. Chocolate golosina.....	37
1.3.2.1. Proteína .....	37
1.3.2.2. Ceniza.....	39
1.3.2.3. Humedad .....	40
1.3.2.4. Grasa .....	41
1.4. CONCLUSIÓN.....	43
1.5. LITERATURA CITADA.....	44
CAPITULO II. USO DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO (NIRS) PARA PREDECIR LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DE CHOCOLATES DE MESA Y GOLOSINA .....	
	47
USO DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO (NIRS) PARA PREDECIR LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DE CHOCOLATES DE MESA Y GOLOSINA .....	
	48
RESUMEN .....	48
ABSTRACT .....	49
2.1. INTRODUCCIÓN .....	50
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	52

2.2.1. Selección de las muestras.....	52
2.2.2. Análisis fisicoquímicos.....	53
2.2.3. Espectroscopia de infrarrojo cercano .....	53
2.2.4. Análisis estadístico .....	53
2.3. RESULTADOS .....	55
2.3.1. Información espectral .....	55
2.3.2. Ecuaciones de calibración.....	59
2.3.3. Validación de la ecuación de calibración.....	59
2.3.3.1. Validación interna .....	59
2.3.3.2. Validación externa .....	63
2.4. CONCLUSIONES.....	67
2.5. LITERATURA CITADA.....	68
CAPITULO III. CONCLUSIONES GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN.....	71
CONCLUSIONES GENERALES.....	72

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Superficie sembrada de cacao, producción y rendimiento en México. ....	5
Tabla 2. Normas para determinar el contenido mínimo permisible de proteína, ceniza, humedad y grasa en chocolates de mesa y golosina. ....	8
Tabla 1.1. Relación de muestras de chocolates comerciales.....	29
Tabla 2.1. Parámetros fisicoquímicos de chocolates comercializados en Tabasco usados en el conjunto de calibración. ....	52
Tabla 2.2. Parámetros fisicoquímicos de chocolates comercializados en Tabasco usados en la validación externa del conjunto de datos. ....	53
Tabla 2.3. Descriptores estadísticos de calibración para proteína, humedad, cenizas y grasa en muestras de chocolate. ....	61
Tabla 2.4. Descriptores estadísticos de validación interna para proteína, humedad, cenizas y grasa en muestras de chocolate. ....	64
Tabla 2.5. Validación externa de los modelos de calibración mediante la prueba de t de Student. ....	66



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales países productores de cacao en grano (1996-2006). SIAP-SAGARPA, 2009).....	4
Figura 2. Frecuencia de vibraciones en el infrarrojo medio.....	10
Figura 3. Frecuencia de vibraciones en el infrarrojo cercano.....	10
Figura 1.1. Contenido de proteína en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).....	32
Figura 1.2. Contenido de cenizas en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).....	34
Figura 1.3. Contenido de humedad en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).....	35
Figura 1.4. Contenido de grasa en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).....	37
Figura 1.5. Contenido de proteína en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formulas golosina).....	38
Figura 1.6. Contenido de ceniza en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formulas golosina).....	39
Figura 1.7. Contenido de humedad en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formulas golosina).....	40
Figura 1.8. Contenido de grasa en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formula golosina).....	42

Figura 2.1. Espectro NIRS del conjunto de muestras de chocolates de diferentes procedencias. ....	55
Figura 2.2. Espectros de procedencias de chocolates: (a) Importados, (b) Nacionales, (c) Locales, (d) Formulaciones. ....	58
Figura 2.3. Modelos de calibración y Validación interna para (a) Proteína, (b) Humedad, (c) Ceniza, (d) Grasa. ....	62
Figura 2.4. Modelos de validación externa para (a) Proteína, (b) Humedad, (c) Ceniza, (d) Grasa. ....	65

## RESUMEN

En el CODEX STAN 87-1891 se definen las características que contiene los chocolates de mesa y golosina, indicando los parámetros: proteína, humedad, ceniza y grasa y los contenidos máximos y mínimos permitidos. Los métodos convencionales de análisis para determinar estos parámetros son necesarios para el control de calidad y es un prerrequisito para el etiquetado nutrimental del alimento. Una alternativa metodológica de análisis utilizada para obtener no solo lo que contiene la muestra sino determinar su identidad puede ser mediante huellas espectrales. La información contenida en las huellas espectrales se obtiene mediante técnicas quimiométricas. La tecnología de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) es un método instrumental de gran interés principalmente por su elevada velocidad de análisis, por la reducción de los errores analíticos y el consumo de reactivos. La información contenida en las huellas espectrales se obtienen mediante técnicas quimiométricas.

Los objetivos del trabajo fueron: a) la caracterización fisicoquímica de los chocolates de mesa y golosina de diferente procedencia comercializados en el estado de Tabasco, mediante métodos químicos y b) el desarrollo de modelos de calibración mediante el uso de la tecnología NIR y la quimiometría para evaluar la calidad de los chocolates. Se utilizaron 28 muestras de procedencia importadas, nacionales y locales, incluyendo tres formulaciones propias. Los resultados se representaron mediante el uso de Box-plot, encontrando que en los chocolates de mesa las muestras nacionales no cumplen con los contenidos mínimos en proteína y ceniza, mientras que en chocolates golosina todas las procedencias si cumplieron en todos los parámetros. El algoritmo mínimos cuadrados parciales (PLS) fue empleado como método de regresión optimizando la mejor ecuación de calibración para cada parámetro, la robustez del modelo se comprobó con una validación externa (muestras desconocidas) obteniendo un valor óptimo en la relación de desviación de la predicción (RPD) en todos los parámetros. Los resultados confirman que sí es posible determinar proteína, humedad, ceniza y

grasa en muestras de chocolate mediante el uso de la tecnología de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR); con la ventaja de ser más rápidos y más económicos que los métodos convencionales establecidos en las normas oficiales, nacionales o internacionales.

## **ABSTRACT**

In the CODEX STAN 87-1891 there are defined the characteristics that it contains the chocolates of table and delicacy, indicating the parameters: protein, moisture, ash and fat and the contents maximum and minimal allowed. The conventional methods of analysis to determine these parameters are necessary for the quality control and it is a prerequisite for the labelling nutrimental of the food. A methodological alternative of analysis used to obtain not only what contains the sample but to determine his identity can be by means of spectral fingerprints. The information contained in the spectral fingerprints is obtained by means of technologies quimiometricas. The technology of spectroscopia of infrared nearby (NIR) is an instrumental method of great interest principally for his high speed of analysis, for the reduction of the analytical mistakes and the consumption of reagents. The information contained spectral fingerprints are obtained by means of technologies quimiometricas.

The aims of the work were: a) the physicochemical characterization of the chocolates of table and delicacy of different origin commercialized in Tabasco, by means of chemical methods and b) the model development of calibration by means of the use of the technology NIR and the quimiometria to evaluate the quality of the chocolates. 28 samples of origin were in use imported, national and local, including three own formulations. The results were represented by means of the use of Box - plot, thinking that in the chocolates of table the national samples do not expire with the minimal contents in protein and ash, whereas in chocolates delicacy all the origins if they expired in all the parameters. The algorithm square minimums partial (PLS) was used as method of regression optimizing the best equation of calibration for every parameter, the hardness of the model was verified by an external validation (unknown samples) obtaining an ideal value in the relation of desviation of the prediction (RPD) in all the parameters. The results confirm that yes it is possible to determine protein, moisture, ash and fat in samples of chocolate by means of the use of the technology of spectroscopia of infrared nearby (NIR); With

the advantage of being more rapid and more economic than the conventional methods established in the official, national or international procedure.

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El origen del chocolate es México donde los Mayas, Incas y Aztecas cultivaron el árbol de cacao (*Theobroma cacao L.*) y fue considerado “alimento de los dioses”. El chocolate es considerado un afrodisiaco estaba disponible solo para ocasiones especiales y para aquellos con riqueza y poder. En 1520, el chocolate mezclado con vainilla y azúcar, fue introducido a Europa por los españoles. Ahí también el chocolate fue reservado a la nobleza y fueron desplazando las bebidas como el café y el té. Aunque su confección inició en Europa y algunos años más tarde en norte América, hoy día el cacao se cosecha en el oeste de África, Indonesia y Sri Lanka (<http://www.candyusa.org>).

La evaluación cualitativa y cuantitativa de los parámetros fisicoquímicos mínimos (proteína, humedad, ceniza y grasa) de los chocolates puede realizarse con métodos convencionales establecidos en el CODEX STAN 141-1983, o con espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS). La utilización de los procedimientos convencionales utilizados para resolver la mayoría de los problemas analíticos implica obtener información sobre los compuestos individuales de una muestra. El tratamiento de la muestra incluye, generalmente, etapas de separación y es la parte más costosa de todo el proceso. Además suele ser, también, la etapa más larga y la de mayor fuente de error. El procesado de los datos suele ser sencillo y la información obtenida se utiliza para detectar, identificar y cuantificar los analitos de interés (Guerrero, 2006).

En la actualidad con la espectroscopia NIR se obtiene información sobre los compuestos de una muestra, determinando su identidad con ciertas señales tipo perfil. La información contenida en los espectros se extrae mediante la aplicación de técnicas quimiométricas, en este caso la manipulación de la muestra se reduce considerablemente, con lo que disminuyen los errores asociados a esta etapa y el tiempo total de análisis es muy corto, al no ser necesarios los procesos de preparación de las muestras para el análisis.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los parámetros fisicoquímicos de los chocolates comercializados en Tabasco, México de los parámetros (proteína, humedad, ceniza y grasa) establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas y mediante la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) generar información útil y suficiente para identificar las huellas espectrales de los chocolates y construir modelos de calibración para estimar la concentración de los parámetros de calidad, en muestras desconocidas.



## **2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **2.1. Objetivos**

Determinar los parámetros fisicoquímicos (proteína, ceniza, humedad y grasa) de los chocolates de mesa y golosina de procedencia importados (I), nacionales (N), locales (L) comercializados en el estado de Tabasco y formulaciones elaboradas (FM y F1-F2), mediante métodos químicos establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas.

Establecer modelos de calibración para predecir los parámetros de calidad de los chocolates mediante el uso de la tecnología NIR.

### **2.2. Hipótesis**

Los chocolates de diferentes procedencias comercializados en el estado de Tabasco, cumplen con los parámetros mínimos de proteína, ceniza, humedad y grasa, establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas.

La información generada con la tecnología NIR es útil para evaluar los parámetros de la calidad de los chocolates proporcionando información similar a la obtenida con los métodos convencionales.

### 3. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1. Producción de Cacao

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es uno de los más importantes cultivos perennes en el mundo, con una producción mundial estimada de 3.8 millones de toneladas en 2007 (SIAP-SAGARPA, 2009). Los principales productores son: Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria, Brasil, Camerún y Ecuador, quienes en su conjunto producen el 89 % de la producción mundial. Costa de Marfil es el país que aporta el 26% de superficie cultivada y el 38% de la producción mundial (Figura 1). En 1996 produjo 1.2 millones de toneladas y para 2006 fueron 1.4 millones de toneladas. México ocupa el 11° lugar en la producción de cacao en grano contribuyendo con el 1.2% de la producción mundial (SIAP-SAGARPA, 2009).

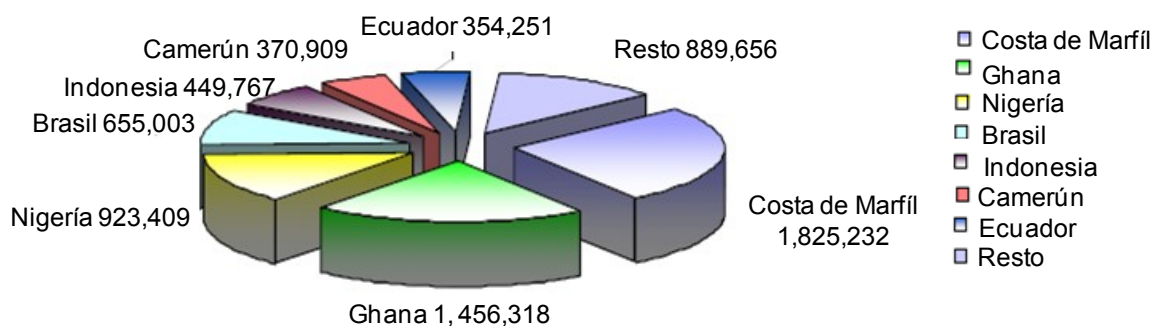


Figura1. Principales países productores de cacao en grano (1996-2006). SIAP-SAGARPA, 2009).

Los países que demandan regularmente este grano son Países Bajos, Estados Unidos, Alemania, Malasia, Reino Unido y Francia que en conjunto absorben el 67.8% del comercio mundial. México en exportaciones mundiales ocupa el 24° lugar con el 20% de las exportaciones mundiales (Fuente: SIAP, FAO. 2009).

En la Tabla 1 se presenta la superficie sembrada, la producción y el rendimiento de cacao en el 2009 en México. Se observa que el 66% de la producción sembrada se localiza en el estado de Tabasco, mientras que el estado de Chiapas produce el 32.79% y en menor cantidad los estados de Guerrero y Oaxaca (SIAP-SAGARPA, 2009). El valor promedio de la producción obtenida de cacao fue de 6,153 (t) y el rendimiento promedio de cacao fue de 0.1 (t/ha).

Tabla 1. Superficie sembrada de cacao, producción y rendimiento en México.

Estado	Superficie (ha)		Producción (t)	Rendimiento (t/ha)
	Sembrada	Cosechada	Obtenido	Obtenido
Chiapas	20,203	20,153	7,855	0.390
Guerrero	240	240	196	0.817
Oaxaca	36	1	1	0.800
Tabasco	41,117	41,117	16,560	0.403
TOTAL	61,596	61,511	24,612	2.410

Fuente: SIAP, FAO. 2009.

Los tipos de cacao que se producen en Tabasco son: Guayaquil, Calabacillo, Ceylán y Criollo. En la actualidad el 80% de la producción es Forastero conocido como Guayaquil, el 18% es Calabacillo, el 5% es Ceylán y el 2% es de tipo criollo (González, 2005).

El uso del cacao ha evolucionado a lo largo de los años hasta lo que se conoce como chocolate (granos procesados en sólido o líquido y su variación en los contenidos por los porcentajes de pasta de cacao, manteca de cacao, azúcar y leche) (Coe y Coe, 1996).

### 3.2. La Calidad en Chocolates

La calidad del chocolate está basada en las variaciones del proceso y manufactura incluyendo el mezclado de los ingredientes utilizados por los diferentes fabricantes (tal como el porcentaje de sólidos de cacao o leche) y el énfasis puesto a las diferentes etapas durante el proceso de elaboración; así como el tiempo de conchado (Cidell y Heike, 2006). El porcentaje de los sólidos de cacao es el material más importante en la determinación de la calidad de un chocolate (Fabricant, 1998).

Un enfoque útil para analizar la calidad en la industria agroalimentaria ha sido la metodología francesa, la cual muestra cómo aplicar diferentes reglas y normas a diferentes puntos a lo largo de la cadena de productos para diferentes regímenes (Murdoch *et al.*, 2000; Fold, 2000; Daviron, 2002; Ponte y Gibbon, 2005). Los regímenes (mercado y precios) son determinantes por la calidad. Los consumidores prefieren productos baratos y el fabricante materias primas baratas, la industria basada en regímenes ve la estandarización de las características fisicoquímicas como el factor más importante en la determinación de la calidad (Daviron, 2002). Las investigaciones de cacao y chocolate son muy amplias; Azizah y Nik (1999) estudiaron las propiedades antioxidantes de diferentes tipos de cacao, encontrando al metanol como mejor solvente de extracción de los antioxidantes en el cacao. Othman *et al.* (2007) mostraron que la capacidad antioxidante, y el contenido fenólico total en granos de cacao de países como Malasya, Ghana y Costa de Marfil.

Steinberg *et al.* (2003) señalaron que el contenido de lípidos en chocolates es relativamente alto y una tercera parte de los lípidos por ácido esteárico. Sin embargo, el cacao y chocolate contribuyen notablemente en la ingesta mineral, la cual es necesaria para un óptimo funcionamiento del sistema biológico y

cardiovascular. Por tanto los múltiples componentes en los chocolates particularmente los flavonoides pueden contribuir en la nutrición y salud humana.

Jinap *et al* (1995), evaluaron el sabor de chocolate semiamargo elaborado con cacao de diferentes países, siendo Ghana el país donde se obtuvieron los parámetros sensoriales más altos. Engler y Engler (2004) encontraron la evidencia de los efectos benéficos de chocolate rico en flavonoides; mejoras en la función endotelial, baja presión en la sangre y disminución de la inflamación.

Da Silva *et al.* (2010) investigaron la presencia de enteropatógenos en la etapa de fermentación y secado de cacao, siendo esta última la etapa más crítica para la introducción de *Salmonella*.

### **3.3. Normatividad**

En la actualidad, la demanda en el mercado ha optado por ofrecer una mejor calidad de sus productos, las categorías de los chocolates oscuros, con leche y blanco varían en los porcentajes de pasta de cacao; con base a lo especificado en el CODEX STAN 141-1983. La norma para el chocolate y los productos del chocolate, CODEX STAN 87-1981, establece la preparación a partir de cacao o derivados del cacao con azúcares y el contenido de edulcorantes, productos lácteos, sustancias aromatizantes y otros ingredientes alimentarios.

En esta norma se describe el chocolate de mesa o taza de un solo tipo con tres grados de calidad: chocolate oscuro o amargo (A-1), chocolate semiamargo (A-2) y chocolate dulce (A-3) y debe contener no menos del 35% de pasta de cacao, del cual, el 18% será manteca de cacao y el 14% de ingredientes adicionales. El chocolate con leche o chocolate golosina deberá contener, no menos del 25% de pasta de cacao, un mínimo especificado de leche entre el 12% y el 14% de otros

ingredientes: azúcares, grasa butírica, aditivos para alimentos e ingredientes opcionales permitidos por la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

Las normas mexicanas establecen los contenidos mínimos que deben contener los chocolates, especificando los métodos de análisis para evaluar los parámetros fisicoquímicos (Tabla 2).

Tabla 2. Normas para determinar el contenido mínimo permisible de proteína, ceniza, humedad y grasa en chocolates de mesa y golosina.

Parámetro	Mínimos permisibles	
	NOM-F-61-1964 Mesa (ChM)	NOM-F-60-1982 Golosina (ChG)
%		
Proteína	4.5	3.75-8.125
Ceniza	1.3 – 2.5	1.3-2.5
Humedad	2.0	0.8-2.0
Grasa	15	30-40

### 3.4. Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIRS)

Los métodos instrumentales presentan, actualmente, un gran interés principalmente por su elevada velocidad de análisis. Algunas de las técnicas basadas en este tipo de generación de señales del conjunto de componentes de una muestra son: espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIRS) (Wang *et al.*, 1995, Macho y Larrechi, 2002, Zhang *et al.*, 2002, González *et al.*, 2003) e infrarrojo medio (MIR) (Carvalho, 2005), espectroscopia ultravioleta-visible (Thurston *et al.*, 2004) y pirolisis acoplada a espectrometría de masas (Goodacre y Kell, 1996, Radovic *et al.*, 2001, Pérez *et al.*, 2002), entre otros.

NIRS es una técnica rápida, no destructiva no contaminante, de gran exactitud siempre que se sigan los procedimientos adecuados para crear modelos de clasificación o de predicción (ecuaciones de calibración). Las propiedades ópticas de los alimentos y en particular la aplicación de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) se emplea desde la década del 70 en la industria

alimenticia, farmacéutica, petroquímica, entre otras; como alternativa a los métodos químicos y químico-biológicos convencionales.

### **3.4.1. Uso y aplicaciones**

El uso de la tecnología de espectroscopia del infrarrojo cercano (NIRS) se ha desarrollado en diferentes campos de la ciencia entre los cuales destacan el área de los alimentos, en estudio de componentes del suelo, así como en la industria farmacéutica. En la industria de los alimentos se han realizado estudios aplicados en el análisis de alimentos para animales (Cozzolino, 2002), en la predicción de los minerales traza en las legumbres (Cozzolino y Moron, 2004); para determinar la calidad interna de la pera (Liu and Ouyang, 2008); en la medición nutrimental de parámetros en muestras de chocolates (Moros, *et al.*, 2007).

### **3.4.2. Interpretación de espectros**

En el espectro infrarrojo medio, entre  $4000$  y  $1300\text{ cm}^{-1}$  (región de frecuencias de grupo) se observan una serie de bandas asignadas a vibraciones de solo dos átomos en la molécula. En este caso la banda de absorción se asocia únicamente a un grupo funcional y a la estructura molecular completa, aunque hay influencias estructurales que provocan desplazamientos significativos en la frecuencia de la vibración. Estas vibraciones derivan de grupos que contienen hidrógeno (C-H, O-H y N-H) o grupos con dobles o triples enlaces aislados. Entre  $1300$  y  $400\text{ cm}^{-1}$  (*fingerprint* región) la asignación a grupos funcionales determinados es más difícil debido a la multiplicidad de bandas, pero es una zona de espectro útil para la identificación de compuestos específicos (Keller *et al.*, 1998). En el espectro de infrarrojo cercano, predominan las bandas debidas a sobretonos y combinaciones de enlaces en los que participa el hidrógeno (debido a que aumenta el grado de anarmonicidad de la vibración). En las Figuras 2 y 3 se muestra un resumen de las absorciones en el infrarrojo cercano.

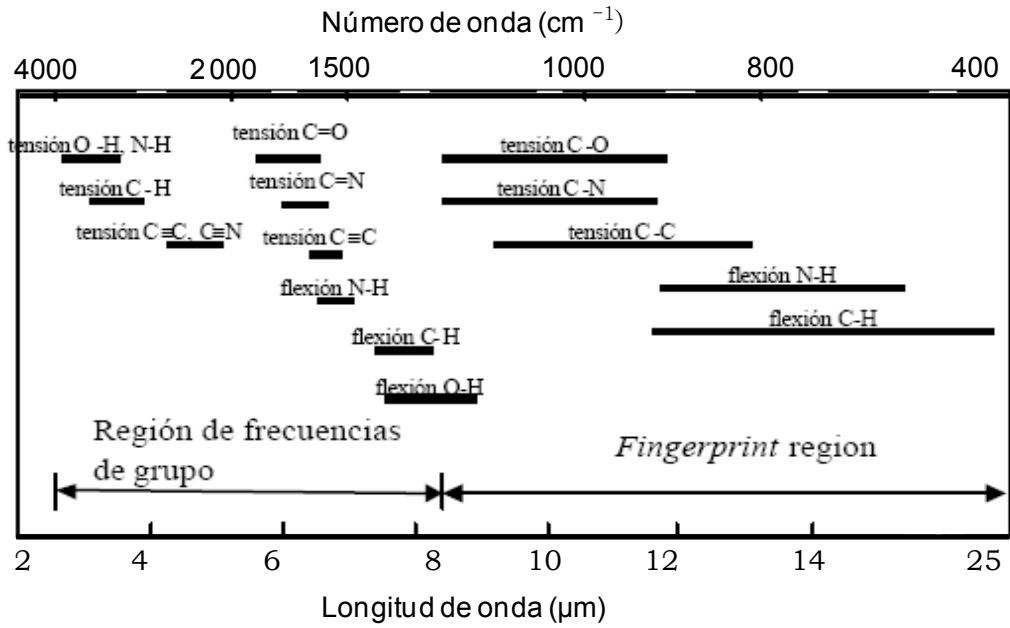


Figura 2. Frecuencia de vibraciones en el infrarrojo medio.

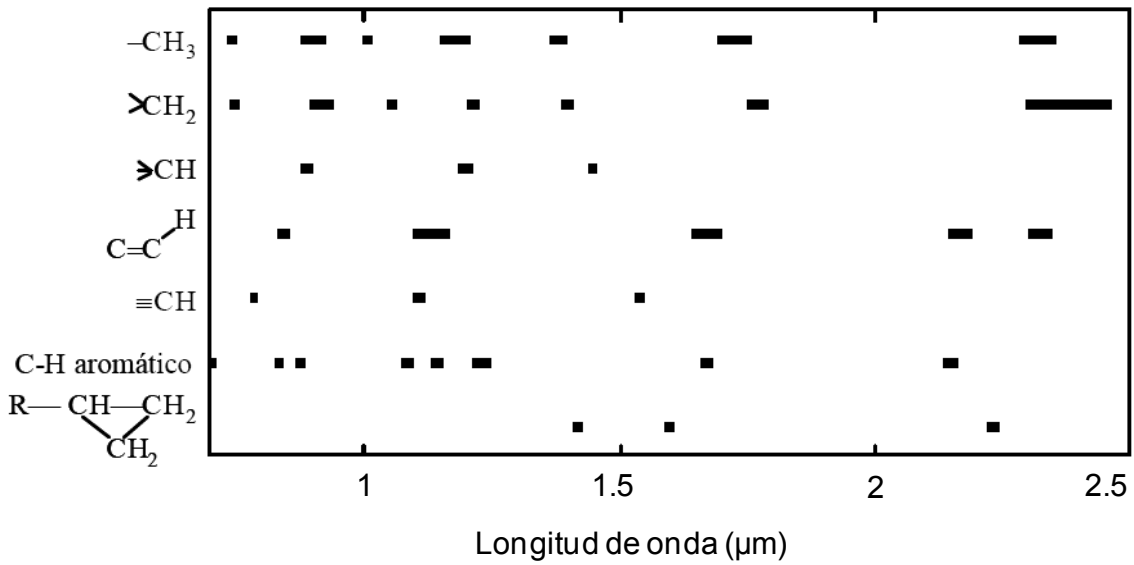


Figura 3. Frecuencia de vibraciones en el infrarrojo cercano.



### 3.5. Quimiometria

La Quimiometría puede definirse como una disciplina química que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para diseñar procedimientos de medida y para obtener la mayor cantidad de información química posible a partir del análisis de datos (Massart *et al.*, 1997). Trata, específicamente, de todos aquellos procesos que transforman señales analíticas y datos más o menos complejos en información útil. Utiliza métodos de origen matemático, estadístico, químicos y otros procedentes del campo de la lógica formal para conseguir sus fines.

Dentro de la Quimiometría pueden citarse los diseños experimentales, métodos de exploración de datos, los métodos de reconocimiento de pautas supervisadas, calibración, regresión simple y multivariante así como los sistemas expertos e inteligencia artificial, entre otros.

En el análisis multivariante cada muestra puede considerarse como un punto en un espacio multidimensional. El objetivo es extraer la información útil de todo el conjunto de las variables medidas en una experiencia. El diseño de experimentos es un complemento de este análisis porque proporciona una estrategia para diseñar la experimentación de un proceso. Esto permite obtener la mayor información útil posible con el menor número de experimentos. Además, la calidad de los parámetros calculados depende exclusivamente del diseño seleccionado y ésta es óptima (menor varianza) cuando la matriz del diseño es ortogonal, es decir, las concentraciones de los diferentes compuestos no están correlacionadas (Massart *et al.*, 1997).

Los métodos de reconocimiento de pautas tienen la finalidad de clasificar o agrupar muestras según las características de las mismas (Brereton, 1992). Pueden distinguirse dos tipos de técnicas de reconocimiento de pautas: supervisadas y no supervisadas.

Las técnicas no supervisadas tienen como objetivo determinar relaciones entre muestras sin utilizar ninguna información previa con respecto a la pertenencia a

determinadas clases. Entre estos métodos se encuentran el análisis de agrupamientos, una de cuyas modalidades es el agrupamiento jerárquico (HCA) en el que las muestras se asocian en función de unos índices de similitud, y el análisis de componentes principales (PCA), en el que se reduce la dimensión de un conjunto de datos mediante el cálculo de combinaciones lineales de las variables originales.

Las técnicas de reconocimiento de pautas supervisadas tienen como fin desarrollar reglas de clasificación para muestras (objetos) desconocidas a partir de un grupo de muestras conocidas que están caracterizadas por los valores de las variables medidas. El éxito de la predicción depende de que las reglas de clasificación y los límites marcados por ellas sean adecuados. El objetivo final es predecir a qué grupo (clase) pertenece una muestra desconocida. Algunas de las técnicas más importantes son el análisis discriminante lineal (LDA), modelado independiente de clases (SIMCA), “support vector machines” (SVM), el método de los k vecinos más próximos (k-NN) y las redes neuronales artificiales (ANN), entre otros.

### **3.5.1. Pretratamiento de los datos**

Se pretende minimizar las contribuciones no deseadas presentes en las señales. Los principales problemas se deben a la dispersión de la luz y a las características físicas de la muestra. Para ello se utiliza un método basado en la reducción de variables, análisis de componentes principales y distintos pretratamientos espectrales.

- Baseline Correction: corrige el *offset* por sustracción de un perfil en lugar de un solo punto, este perfil puede ser una fila en la tabla de datos o puede ser derivado de un ajuste de la curva. Encontrar una línea base por cada muestra requiere conocimiento acerca de cuáles variables lo pueden usar y los grados de ajuste (lineal). La vía más sencilla para especificar las líneas base es enmascarar las variables, esto es un método iterativo de ajuste.

Primero todas las variables son incluidas para ser usadas y calcular un aproximado de los grados especificados. Solamente las variables con puntos fuera o por debajo de lo aproximado son retenidas como variables de la línea base y otro aproximado es calculado, como este proceso se repite pocas variables permanecen en la línea base. Cuando solamente el 1% de todas las variables incluidas son menores o cuando el número de variables no disminuye, el proceso se detiene y la línea base es calculada sobre las variables detenidas. Por tanto, y como muchas variables son determinadas para estar en la línea base, hay variación de muestra a muestra.

- Normalize: Muchas definiciones están dadas para la normalización. Todas muestran la idea de dividir cada valor del dato por un factor de normalización. Las distintas opciones proveen flexibilidad en los cálculos de el factor de normalización de la muestra (*Divide By*) describen un conjunto de opciones diferentes de otras transformaciones y dependen de cuáles variables son usadas en los cálculos del factor de normalización. La normalización es apropiada cuando la variable de respuesta depende del tamaño de la muestra.
- Smooths: Está basada en un filtro polinomial (Savitzky *et al.*,1964). Este método aplica a variables independientes. Permite disminuir problemas como los presentados en bandas sopladas. Se calculan las diferencias entre las distintas partes del espectro, suavizando partes del mismo.
- Multiply: Evita que los efectos de la dispersión se impongan a las señales químicas.

### 3.5.2. Análisis no supervisados

- Análisis de componentes principales: es un método habitual de análisis multivariante, que se utiliza para la clasificación de muestras y reducción de datos, como paso previo a la generación de modelos de clasificación o predicción. Básicamente consiste en:
  - ❖ Estimar la dimensionalidad real de las muestras estudiada; se reduce esta dimensionalidad manteniendo la información relevante del sistema (Brereton, 1992).
  - ❖ Calcular un nuevo sistema de coordenadas, para lo que se buscan las direcciones que expliquen la máxima variabilidad de las muestras. Estos nuevos ejes se denominan componentes principales. Así el primer componente principal es la dirección que explica la máxima variabilidad de las muestras; el segundo, se escoge que sea perpendicular al primero, y que explique la máxima variabilidad de las muestras una vez restada la explicada por el primer componente principal y así sucesivamente.

La detección de los espectros outliers o espectros fuera de la población pueden ser causantes de errores en los análisis (Henry *et al.*, 1999). Cuya presencia provoca un aumento en la varianza o una distorsión en las covarianzas, por consiguiente es conveniente eliminarlos de la siguiente manera:

- Muestra residual: la varianza de la muestra residual continúa directamente desde la matriz residual  $E_k$  indicando  $k$  como factor de aproximación,  $e_i$ , es la diferencia entre los datos de las muestras originales y su factor  $k$  estimado  $\hat{x}_i$ :

$$\hat{e}_i = x_i - \hat{x}_i \quad (1)$$

La varianza de las muestras residuales es:

$$\hat{S}_i^2 = \frac{\hat{e}_i \hat{e}_i^T}{m-k} \quad (2)$$

En Pirouette, la raíz cuadrada de la varianza de la muestra residual es llamada muestra residual:

$$\hat{S}_i = \left( \frac{\hat{e}_i \hat{e}_i^T}{m-k} \right)^{1/2} \quad (3)$$

Un total de la varianza puede ser calculada:

$$S_o^2 = \frac{1}{n-k} \sum_i^n \hat{S}_i^2 \quad (4)$$

Una prueba de F es usada para decidir si dos varianzas son diferentes significativamente:

$$F_i = \frac{\hat{S}_i^2}{S_o^2} \quad (5)$$

Si el lado izquierdo de la ecuación (4) es en conjunto igual al valor crítico extraído de una tabla de F (basados en 1 y n-k grados de libertad), una muestra crítica residual puede ser determinada por:

$$S_{crit} = S_o (F_{crit})^{1/2} \quad (6)$$

Esto hace decidir si una muestra residual excede  $S_{crit}$ , y por tanto la muestra es un outlier.

- Distancia de Mahalanobis: por cada muestra, una distancia es evaluada desde su factor k.

$$MD_i = (t_i - \bar{t})^T S_k^{-1} (t_i - \bar{t}) \quad (7)$$

Donde  $S$  es la matriz de covarianza y  $\bar{t}$  es la media del vector.

Asumiendo que la distancia de Mahalanobis es normalmente distribuida, un valor crítico  $MD_{crit}$  puede ser determina con la distribución de chi cuadrada con k grados de libertad. Si las distancias exceden  $MD_{crit}$  entonces la muestra es un outlier.

### 3.5.3. Modelo de calibración

El método de calibración multivariante basado en la reducción de variables utilizado en este trabajo fué el de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS), utiliza tanto la matriz contenida en la matriz de los datos espectroscópicos (matriz X), como la información contenida en la matriz de concentraciones (matriz Y); con ambas informaciones el método reduce el impacto de grandes pero irrelevantes variaciones en el calibrado (Höskuldsson, 1996).

Los parámetros que definen la ecuación de calibración son los siguientes:

- RSQ: Coeficiente de correlación multiple; se utiliza para medir el grado de asociación o correlación entre los datos predichos por el modelo y los datos del número de referencia.

$$RSQ=1-\left(\frac{\sum_{i=1}^N (y_{cali}-\hat{y}_{teoi})^2}{\sum (y_{teoi}-\bar{y})^2}\right) \quad (8)$$

- SEC: error estándar de calibración

$$SEC=\left(\frac{\sum_{i=1}^N (y_{cali}-\hat{y}_{teoi})}{N-p-1}\right)^{1/2} \quad (9)$$

- SECV: error estándar de validación cruzada

$$SECV=\left(\frac{\sum_{i=1}^N (y_{cali}-\hat{y}_{teoi}-BIAS)^2}{N-1}\right)^{1/2} \quad (10)$$

Donde  $y_{cal}$  e  $\hat{y}_{teoi}$  son respectivamente, las concentraciones calculadas y teóricas para cada i-muestras,  $\bar{y}$  es el valor medio de las concentraciones calculadas, N es el número de muestras utilizadas en el calibrado, y p es el número de factores de la regresión.

La bondad del modelo de calibración se realiza mediante el proceso de validación (validación cruzada o *cross-validation*), es un proceso interno que utiliza para comprobar el modelo. Mediante este método el conjunto de muestras de calibración se divide en varios grupos.

Los parámetros en esta etapa son los siguientes:

- BIAS: se define como la media de los residuales, siendo éstos la diferencia entre el valor de referencia ( $y_{cali}$ ) y el valor predicho ( $\hat{y}_{teoi}$ ).

$$RESIDUAL, f_{ij} = (y_{cali} - \hat{y}_{teoi}) \quad (11)$$

$$BIAS = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (y_{cali} - \hat{y}_{teoi}) \quad (12)$$

- SEP: error estándar de predicción

$$SEP = \left( \frac{\sum_{i=1}^N (y_{cali} - \hat{y}_{teoi})^2}{N - p - 1} \right)^{1/2} \quad (13)$$

- SEP(C): Error corregido por el BIAS

$$SEP(C) = \left( \frac{\sum (y_{cali} - \hat{y}_{teoi} - BIAS)^2}{N - 1} \right)^{1/2} \quad (14)$$



#### 4. LITERATURA CITADA

- Azizah A. H., Nik N. M., Swee T. T. 1999. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. *Food chemistry* 64:199-202.
- Brereton, R. G. 1992. *Chemometrics: Applications of Mathematics and chemometrics, illustrated by case studies*. Elsevier. Amsterdam.
- Carvalho, A. R., Nogal S. M, J. Wattoon, and R. G. Brereton. 2005. Comparison of PLS and kinetic models for a second-order reaction as monitored using ultraviolet visible and mid-infrared spectrometry. *Talanta* (doi:10.1016/j.talanta.2005.07.053)
- Chocolate Manufacturers Association National Confectioners Association. US 1996 statistics. <http://www.candyusa.org>
- Cidell, J. L., Alberts, H.C. 2006. Constructing quality: The multinational histories of chocolate. *Geoforum* 37: 999-1007.
- CODEX STAN 141-1983. Rev. 1-2001. Norma para el cacao en pasta (licor de cacao/chocolate) y torta de cacao.
- CODEX STAN 87-1981. Rev. 1-2003. Norma para el chocolate y los productos del chocolate.
- Coe, S. and Coe, M. 1996. *The true History of Chocolate*. Thames and Hudson, London.
- Cozzolino D. 2002. Uso de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis de alimento para animales. *Agrociencia*. 6: 123-132.
- Cozzolino D. and Moron A. 2004. Exploring the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict trace minerals in legumes. In: *Animal Feed Science and Technology* 111.

- Da Silva, D. M., Neusely, D., Ivone, F. D., Juliana D., Erica, R. M., Aline, B. S. 2010. Enteropathogens in cocoa pre-processing. *Food Control* 21: 408-411.
- Daviron, B. 2002. Small Farm Production and the Standardization of Tropical Products. *Journal of Agrarian Change* 2: 162-1984
- M. Engler, B., Marguerite E. M. 2004. The vasculoprotective effects of flavonoid-rich cocoa and chocolate. *Nutrition Research* 24: 695-706.
- Fabricant, F. 1998. The intense pleasures of dark chocolate. *New York Times*, December 16.
- Fold, N. 2000. A matter of good taste? Quality and the construction of standards for chocolate products in the European Union. *Cahiers d'économie et sociologie rurales* 55-56, 91-110.
- González V. 2005. Cacao en México: Competitividad y Medio Ambiente con Alianzas. INIFAP e IPRC para USAID. México.
- González, M. I., González-Pérez C., Hernández Méndez J. and Álvarez-García N. 2003. Determination of fatty acids in the subcutaneous fat of Iberian breed swine by near infrared spectroscopy (NIRS) with a fibre-optic probe. *Meat Science* 65:713-719.
- Goodacre, R. and Kell D. B. 1996. Correction of mass spectral drift using artificial neural networks. *Analytical Chemistry* 68:271-280
- Guerrero, P. A. 2006. Estudio de la Contaminación en Suelos por Petróleo Crudo Mediante Generación de Espacio de Cabeza-Espectrometría de Masas. Tesis de Doctorado. Universidad de Salamanca. Salamanca España.

- Henry, R. C., Park, E. S., and Spiegelman, C. H. 1999. Comparing a new algorithm with the classical methods for estimating the number of factors. *Chemometrics Intell. Lab. System* 48: 91-97
- Höskuldsson, A. 1996. *Prediction Methods in Science and Technology*. Thor Publishing, Denmark
- Jinap, S., Dimick, P. S., Hollender R. 1995. Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food control* 6: 105-110
- Keller R. Mermet J. M., M Otto and Widmer H. M. 1998. *Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, New York.
- Liu Y., Chen X, and Ouyang A. 2008. Nondestructive determination of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectrometry. *LWT - Food Science and Technology* 41: 1720–1725.
- Macho, S. and M. S. Larrechi. 2002. Near-infrared spectroscopy and multivariate calibration for the quantitative determination of certain properties in the petrochemical industry. *Trends in Analytical Chemistry* 21:799-806.
- Massart, D. L., G. M. Vandeginste, L. M. C. Buydens, S. De Jong, P. J. Lewi, and J. Smeyers-Verbeke. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*. Elsevier, Amsterdam, 1997, *Part B*, 1998. Elsevier. Amsterdam.
- Moros, J., Iñon, F. A., Garrigues S., M. de la Guardia. 2007. Near-Infrared diffuse reflectance spectroscopy and neural networks for measuring nutritional parameters in chocolate samples. *Analytica chimica Acta* 584: 212-222.
- Murdoch, J., Marsden, T., Banks, J., 2000. Quality, nature, and embeddedness: some theoretical considerations in the context of the food sector. *Economic Geography* 76: 107-125.

- Othman A., Amin I., Nawalyah A. G., Ilham A. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food chemistry* 100: 1523-1530.
- Pérez, C., Viallon C., and Berdagué J. L. 2002. Curie point pyrolysis-mass spectrometry applied to rapid characterization of cheeses. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 65:161-171.
- Ponte, S., Gibbon, P., 2005. Quality standards, conventions and the governance of global value chain. *Economy and Society* 34: 1-31
- Radovic, B. S., Goodacre R., and Anklam E. 2001. Contributions of pyrolysis-mass spectrometry (Py-MS) to authenticity testing of honey. *Journal of Analytical Applied Pyrolysis* 60:79-87.
- Savitzky, A. and Golay, M.J.E. 1964. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analitica Chemical* 62: 570-573.
- SIAP-SAGARPA 2009. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera-Secretaría de agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. Estadística Básica. Anuario 2006. [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx).
- Steinberg F. M., Monica M. B., Carl L. K. 2003. Cocoa and chocolate flavonoids: for cardiovascular health. *American –dietetic Association*. 103: 215-223.
- Thurston, T. J., Brereton R. G., Foord D. J., and Escott R. E. A.. 2004. Principal components plots for exploratory investigation of reactions using ultraviolet-visible spectroscopy: application to the formation of benzophenone phenylhydrazone. *Talanta* 63:757-769
- Wang, Z., Dean T., and Kowalski B. R. 1995. Additive background correction in multivariate instrument standardization. *Analytical Chemistry* 67:2379-2385.

Zhang, L, Small C. W., and Arnold M. A. 2002. Calibration standardization algorithm for partial least-squares regression: application to the determination of physiological levels of glucose by near-infrared spectroscopy. *Analytical Chemistry* 74:4097-4108.

**CAPITULO I. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS CHOCOLATES  
DE MESA Y GOLOSINA COMERCIALIZADOS EN TABASCO, MÉXICO**

## CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE CHOCOLATES DE MESA Y GOLOSINA COMERCIALIZADOS EN TABASCO, MÉXICO

### RESUMEN

Las NOM indican las características de los chocolate de mesa (ChM) y chocolate golosina (ChG) para los contenidos de proteína, ceniza, humedad y grasa. En el estudio fue evaluada la calidad físico-química de chocolates importados I, nacionales N, locales L y formulas elaboradas F; comercializados en Tabasco, México. Los resultados fueron: **ChM** para (I,N,L,F); %P(4.80, 3.82, 5.57, 8.30), %C(1.46, 1.12, 1.53, 2.50), %H(0.86, 0.52, 1.14, 2.10) y %G(31.67, 16.48, 19.76, 32.85). Las procedencias (I, L,F); cumplen con la NMX-F-59-1964, las N no cumplen en %P y %C. En **ChG** para (I,N,L,F); %P(5.90, 5.02, 6.11, 7.10), %C(1.60, 1.63, 1.70, 1.59), %H (1.45, 1.38, 1.77, 1.22) y %G(29.62, 26.26, 29.99, 27.22). En general, todas las procedencias cumplen con la NMX-F-60-1982 y los L presentaron más heterogeneidad que las I y N.

**Palabras clave:** Chocolate golosina, Chocolate de mesa, Diagramas de caja.

## PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF CHOCOLATES OF TABLE AND DELICACY COMMERCIALIZED IN TABASCO, MEXICO

### ABSTRACT

The NOM indicate the characteristics of the chocolate of table (ChM) and chocolate delicacy (ChG) for the contents of protein, ash, moisture and fat. In the study the quality was evaluated physicist - chemistry of imported chocolates I, national N, local made L and elaborated formulae F; commercialized in Tabasco, Mexico. The results were: **ChM** for (I,N,L,F); %P (4.80, 3.82, 5.57, 8.30), %C (1.46, 1.12, 1.53, 2.50), %H (0.86, 0.52, 1.14, 2.10) and %G (31.67, 16.48, 19.76, 32.85). The origins (I, L, F); they expire with the NMX-F-59-1964, the N do not expire in %P and %C. In **ChG** for (I, N, L, F); %P (5.90, 5.02, 6.11, 7.10), %C (1.60, 1.63, 1.70, 1.59), %H (1.45, 1.38, 1.77, 1.22) and %G (29.62, 26.26, 29.99, 27.22). In general, all the origins expire with the NMX-F-60-1982 and the L they presented more heterogeneity than the I and N.

**Key words:** Chocolate delicacy, Chocolate of table, Box-plot



## 1.1. INTRODUCCIÓN

El chocolate es una de las golosinas universales, fuente de energía de alto valor nutritivo, de rápido metabolismo y buena digestibilidad. La presencia de cacao, leche y azúcar en su composición puede ser garantía de una adecuada ingestión de proteínas, carbohidratos, grasas, minerales y vitaminas (Campos & Benedet, 1994). El origen del chocolate es de México donde los Maya, Incas y Aztecas cultivaron el cacao (*Theobroma cacao L.*) y lo llamaron “alimento de los dioses”. El chocolate es considerado un afrodisiaco, y sólo estaba disponible en ocasiones especiales y para aquellos que tenían riqueza y poder (Coe and Coe, 1996).

La calidad de un chocolate se basa en las variaciones de transformación y fabricación, incluyendo la mezcla de los ingredientes utilizados (tales como el porcentaje de cacao o leche) y el énfasis puesto en las diferentes etapas del proceso de fabricación (Cidell y Alberts, 2006). La demanda comercial de productos de primera calidad, ha sido estimulada con mejoras en la garantía de calidad; lo que hace posible considerar la variedad y el origen de los chocolates al momento ser adquiridos por los consumidores (Awua, 2002; Beckett, 2000; Whitefield, 2005).

En el CODEX STAN 87 - 1981 y en la Norma Oficial Mexicana (NOM-333-2000) son incluidas las definiciones y características del chocolate golosina y del chocolate de mesa, indicándose los parámetros de calidad: proteína, humedad, cenizas y grasa; así como los límites mínimos permitidos.

El análisis cuantitativo de proteína, humedad, ceniza y grasa es necesario para el control de calidad y es un prerrequisito para el etiquetado nutrimental de alimentos. Las proteínas de diferente origen han cambiado por su precio para atraer al consumidor. El cumplimiento de las restricciones dietéticas significa excluir determinadas proteínas (fuentes) de la dieta. La variedad de proteína

consumida es también extremadamente importante debido a la alergia a determinados alimentos (Owusu-Apenten y Marcel, 2002).

El contenido de humedad en los chocolates debe ser, en general, menor a 2%, debido a que este parámetro influye considerablemente en la vida de anaquel del producto (Chevally, 1999).

Los niveles de minerales esenciales que se producen en los alimentos pueden cambiar por diferentes razones. Algunas fuentes de variación son biológicas, tal como la variedad de la planta y diferentes fertilizaciones de un cultivo (Torelm & Danielsson, 1998). Los valores de contenido de cenizas son elevados en los chocolates oscuros debido al contenido de pasta de cacao presente en mayor proporción en sus ingredientes lo que indica un alto contenido de minerales, específicamente potasio, magnesio, cobre y hierro (Holland *et al.*, 1991). En el chocolate con leche el aporte de calcio se incrementa notablemente (Harland, 1985; Aremu & Abara, 1991).

La manteca de cacao es un constituyente importante en los chocolates, los ácidos grasos predominantes son saturados (esteárico 35% y palmítico 25%) y monoinsaturados (oleico 35%) (Bracco, 1994).

El objetivo del presente estudio fue realizar el análisis comparativo de chocolates de mesa y golosina de procedencias importadas, nacionales y locales que se comercializan en el estado de Tabasco, México con base a los parámetros fisicoquímicos (proteína, humedad, cenizas y grasas) establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas para la caracterización nutrimental de chocolates.

## 1.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1.2.1. Materiales

Las muestras de chocolates seleccionadas para el estudio, se obtuvieron en establecimientos comerciales, empresas y microempresas chocolateras ubicadas en el estado de Tabasco, en el sureste de México. En la Tabla 1.1 se muestra la procedencia de las 28 diferentes marcas de chocolate de mesa (ChM) y chocolate golosina (ChG) incluidas en el estudio, las cuales se adquirieron por triplicado.

Tabla 1.1. Relación de muestras de chocolates comerciales.

Procedencia	Golosina	Mesa
Importadas	6	3
Nacionales	2	4
Locales	2	11

Las muestras fueron identificadas y registradas con un número consecutivo de laboratorio y se clasificaron según su procedencia como chocolates importados (I), nacionales (N) y locales (L). Adicional a los productos comerciales fue preparada una formulación de ChM: semiamargo (FM) y dos formulaciones de ChG: oscuro (F1) y con leche (F2), y para ser evaluadas con el conjunto de muestras comerciales.

Para los análisis físicos y químicos las muestras fueron trituradas y molidas, para tamizarlas con una malla número 20 y colocarlas en un bote de plástico de 500 mL de capacidad, para su conservación en un enfriador a temperatura de 20 °C, sobre la base de las condiciones de los establecimientos comerciales de Tabasco. Las formulaciones fueron preparadas con base en el proceso de elaboración de chocolates establecido en el CODEX STAN 87-1981.

### **1.2.2. Parámetros fisicoquímicos**

Las muestras de chocolates fueron analizadas, utilizando los métodos del CODEX STAN 141-1983, establecidos en las Normas Mexicanas. El método de ensayo para cada parámetro evaluado fue: NMX-F-068-S-1980 para determinación de proteínas, NMX-F-066-S-1978 para cenizas, NMX-F-428-1982 para humedad y NMX-F-089-S-1978 para grasa.

### **1.2.3. Análisis estadístico**

Los resultados fueron analizados utilizando un diagrama de cajas y bigotes con el software STATISTICA (Data Analysis Software System), versión 6 StatSoft, Inc. (2003). El gráfico consiste en un rectángulo (caja) de sus lados superior e inferior se derivan respectivamente dos segmentos (bigotes): uno hacia arriba (límite superior) y otro hacia abajo (límite inferior). Las observaciones por encima o abajo de estos límites se consideran atípicas. La caja se secciona en cuartiles (Q): El primer cuartil (Q1) está situado en el borde inferior de la caja, por debajo de este valor se encuentra como máximo el 25% de las observaciones. El segundo cuartil es la mediana (Q2), divide a la distribución en dos partes iguales con un punto dentro de la caja, el 50% de las observaciones están por debajo de la mediana y 50% está por encima. Tercer cuartil (Q3) por debajo de este valor se encuentran como máximo el 75% de las observaciones (Douglas *et al.*, 2005). La variabilidad de las observaciones se obtiene con la posición de la mediana dentro de la caja indicando la simetría (Carrascal, 2008).

### **1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados de la investigación son presentados en dos secciones, en la primera parte se presenta el estudio realizado a los chocolates de mesa; mientras que la segunda parte son presentados los resultados del estudio realizado a los chocolates golosina.

#### **1.3.1. Chocolate de mesa**

Existe una variación en los parámetros evaluados en chocolates de mesa (NMX-F-59-1964), en cuanto al porcentaje de pasta de cacao con los demás ingredientes. Con base a esta, los chocolates son comercializados de un solo tipo, clasificados con tres grados de calidad: amargo (A-1), semi-amargo (A-2) y dulce (A-3) la presentación del producto es en forma de tablillas individuales o en paquetes, y su color según el tipo fue desde café marcadamente oscuro, hasta café claro.

##### **1.3.1.1. Proteína**

De acuerdo con la NMX-F-59-1964, la concentración mínima de proteína en los chocolates debe ser 7.25 % para la calidad A-1, 5.8% para la calidad A-2 y 4.5 % para la calidad A-3. En los chocolates de procedencia local (L) hubo un intervalo intercuartílico más amplio, esto significa que se tiene más dispersión de los datos, es decir una mayor heterogeneidad (diferentes grados de calidad). En la Figura 1.1 podemos observar que la mediana de los datos fue 5.57% lo que indica que la producción de chocolate en el estado de Tabasco es, en su mayoría, de la calidad semi-amargo (A-2). Se observa también que en el alargamiento de los bigotes en la parte inferior de la caja incluye a los chocolates con un grado de calidad (A-3) lo que representa un chocolate de tipo dulce que contiene sustancias aromáticas (vainilla y/o canela) y es de producción artesanal. Chan *et al.* (1994) coinciden con los resultados mostrados para el contenido de proteína en chocolates oscuros de 5.0 %. La Figura 1.1 muestra en la parte superior de la caja un prolongado alargamiento del bigote en muestras con un contenido de proteínas superior a

7.25 % las cuales presentan un grado de calidad A1 con un contenido mínimo del 50 % de pasta de cacao.

En las muestras nacionales (N) se observa una menor amplitud de los bigotes comparada con los datos de chocolates de procedencia locales, es decir, las muestras son más homogéneas, comparadas con la procedencia (L). La mediana de los datos es 3.82% y la mayoría de los datos están cerca de esta valor lo que indica que son chocolates muy dulces y la mayoría de sus valores se encuentra por debajo del valor mínimo (4.5) establecido por la NMX-F-068-S-1980.

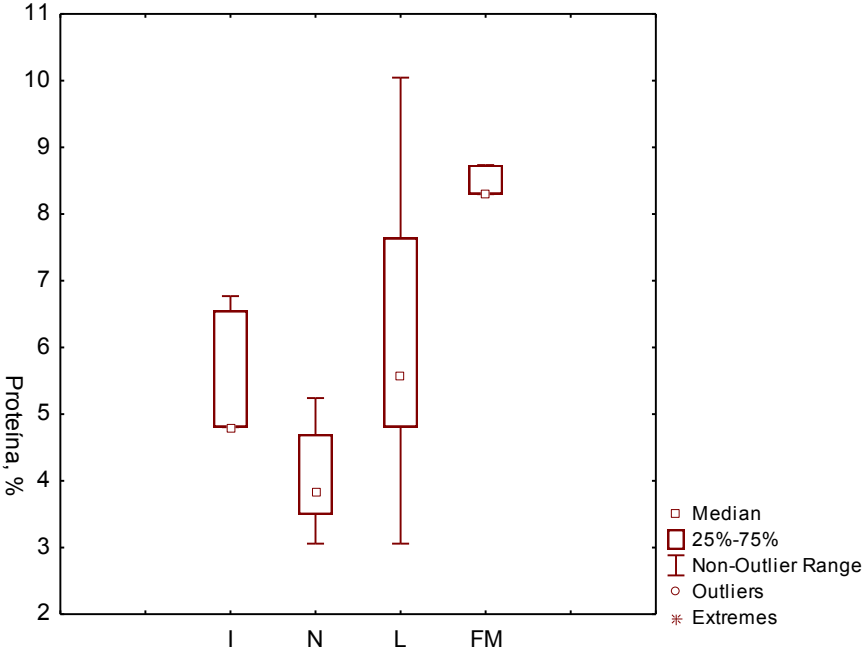


Figura 1.1. Contenido de proteína en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).

Las muestras importadas (I) presentan un valor de proteína en el segundo cuartil del 4.8 %, y a diferencia de las muestras de procedencia nacional se observa que el tamaño de los bigotes en la parte inferior al contenido de proteína mínimo esperado en chocolates de grado A-3 y en la parte superior de la caja el contenido

de proteína es mayor debido a la cantidad de pasta de cacao que contiene. Esto representa valores con diferente grado de calidad en chocolates importados.

Para el caso de la formula elaborada de chocolate de mesa (FM) se observa una mayor homogeneidad en los datos lo que presenta la menor amplitud en la caja mostrada en la Figura 1.1. El valor de la mediana de 8.30 % indica a su vez un grado de calidad A-1. La homogeneidad del lote de estas muestras favorece que se presenten diferencia intercuartilica, en el contenido de proteína, con respecto a las procedencias nacionales e importadas, pero no así con las muestras locales.

#### **1.3.1.2. Ceniza**

En la Figura 1.2 se observa que las muestras de procedencia local (L) presentan una mayor dispersión de los datos de ceniza, cuando se comparan con las muestras nacionales, internacionales y formulas propias. La amplitud del intervalo de valores en los datos de ceniza en las muestras locales indica que es el grupo de muestras menos homogéneo, con un valor de la mediana de 1.46 % (A-2). En el caso de las muestras de procedencia nacionales (N) e importadas (I) la amplitud de la caja es menor comparada con las locales, esto indica que son datos más homogéneos en ambas. Los valores promedios de ceniza, son más bajos en las muestras nacionales debido al contenido de ingredientes como el azúcar; la cual, también influye en el contenido de proteína, comparado con las de otras procedencias, por lo cual no cumplen con las especificaciones de la norma debido a que la mayoría de los datos presento un valor de 1.12%.

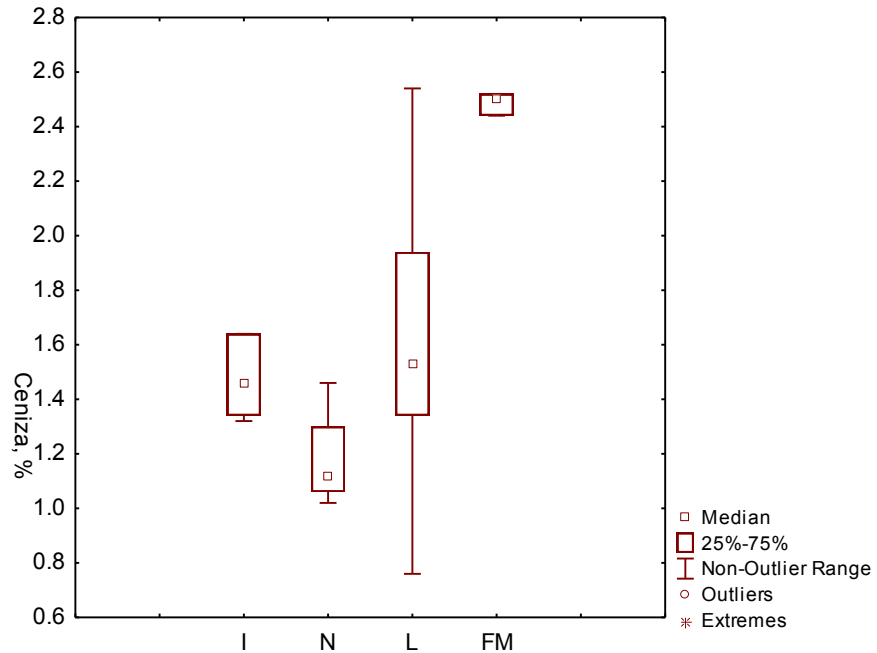


Figura 1.2. Contenido de cenizas en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).

En el caso de los chocolates FM se observa que los datos de ceniza presentan la mejor homogeneidad al tener menor amplitud en la caja, el valor de la mediana fue de 2.5% de contenido de cenizas, Steinberg *et al.* (2003), determinaron que el contenido de minerales en chocolates oscuros es una fuente razonablemente buena para el funcionamiento vascular. Se puede observar que de los diferentes tipos de procedencias de chocolates analizados únicamente se presenta diferencia intercuartilica en el contenido de cenizas, en el caso de las muestras FM con respecto a las procedencia importados (I) y nacionales (N), pero no con las muestras de procedencia local (L).



### 1.3.1.3. Humedad

Las muestras de procedencia local (L) presentan mayor dispersión de los datos de humedad, se observa un amplio rango de los datos; el valor de la mediana en el parámetro de humedad analizado fue de 0.52 % (Figura 1.3).

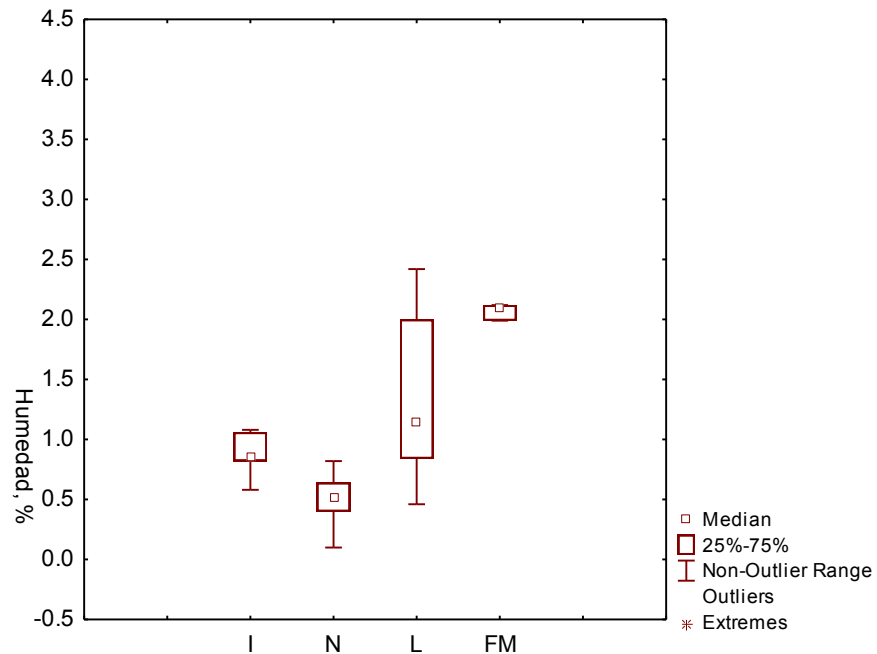


Figura 1.3. Contenido de humedad en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).

Lo cual indica que la mayoría de las muestras presentan valores menores al máximo permitido en la NMX-F-59-1964.

En el caso del chocolate de mesa (FM) presenta mayor homogeneidad (2.10 %) en comparación con las muestras de otras procedencias, debido a que la amplitud de la caja y la longitud de los bigotes son los más pequeños, aún cuando los valores de humedad son altos y estadísticamente diferentes a los otras procedencias. En la Figura 1.3, se puede observar que no existe diferencia intercuartilica en el contenido de humedad en las muestras importadas (I) y nacionales (N) y de procedencia local (L), pero si con la formula (FM).

#### **1.3.1.4. Grasa**

El contenido de grasa en las muestras locales (L) presenta la mayor dispersión (Figura 1.4), entre los datos obtenidos de los diferentes grupos de muestras, por lo que es el grupo menos homogéneo. Lo cual, se confirma por la amplitud de los bigotes. Las muestras locales presentaron un valor de grasa de 32.85 % lo que indica un grado de calidad (A-3). Las muestras de chocolate de procedencia nacional (N) presentan menor dispersión entre sus datos analizados; sin embargo, el tamaño de la caja es reducido lo que representa muestras más homogéneas con un valor de grasa de 16.48 %, y son clasificadas con un grado de calidad A-3. En la Figura 1.4 se observa que esta procedencia presenta diferencia intercuartílica, en el contenido de grasa, con las muestras (FM) e (I) pero no así con las locales (L).

Las muestras de procedencia importadas (I) indican homogeneidad en sus datos analizados y los datos de porcentajes de grasa medidos son altos (31.67 %) en comparación con las muestras nacionales. De la procedencia FM se puede observar que hay menor dispersión, el tamaño de la caja es reducido y esto representa una buena homogeneidad del lote, sus valores en contenido de grasa se encuentran situados en niveles altos (32.85 %). Esta procedencia presenta diferencia intercuartílica con respecto a las (N), pero no con muestras de procedencia (I) y (L).

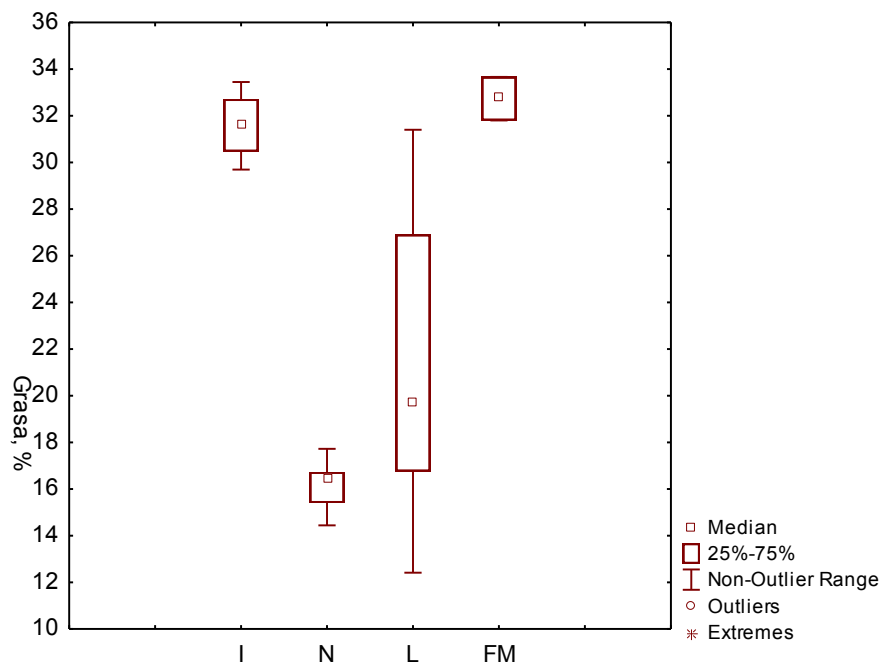


Figura 1.4. Contenido de grasa en muestras de ChM (I=importadas, N=nacional, L=local, FM=formula mesa).

### 1.3.2. Chocolate golosina

De acuerdo con la NMX-F-60-1982 los chocolates golosina pueden clasificarse según sus ingredientes de elaboración como: chocolate con leche y chocolate semiamargo con leche, lo cual representa una gran variación dentro de los parámetros de calidad evaluados en las muestras de diferente procedencia.

#### 1.3.2.1. Proteína

Chan *et al.* (1994) mostraron que uno de los mayores constituyentes del chocolate con leche es la proteína. En la Figura 1.5 se presentan los valores de proteína; en las muestras locales (L); la amplitud de la caja es la más grande; y la mediana se localiza en el centro de la caja lo que indica heterogeneidad. El valor de la mediana en el contenido de proteína de los chocolates golosina locales es de 6.11%.

Las muestras nacionales (N) e importadas (I), presentan menor dispersión de los datos, es decir, son más homogéneas y sus valores de mediana están entre 5.02 y 5.90 %, respectivamente.

En las formulaciones de chocolates preparadas (F1-F2) la dispersión fue menor comparada con las muestras locales, pero presenta una amplitud apreciable en el tamaño de la caja lo cual es atribuido a la diferencia de ingredientes en cada formula. En la F1 no se utilizó el ingrediente leche y como resultado el contenido de proteína es menor comparado con la F2. Las muestras de las formulas F1 y F2 fueron graficadas, en la Figura 1.5, en una misma caja a fin de compararlas con las muestras de procedencia local (L), nacional (N) e importadas (I). No se encontraron diferencia intercuartilica en el contenido de proteína entre los chocolates, con base en la procedencia.

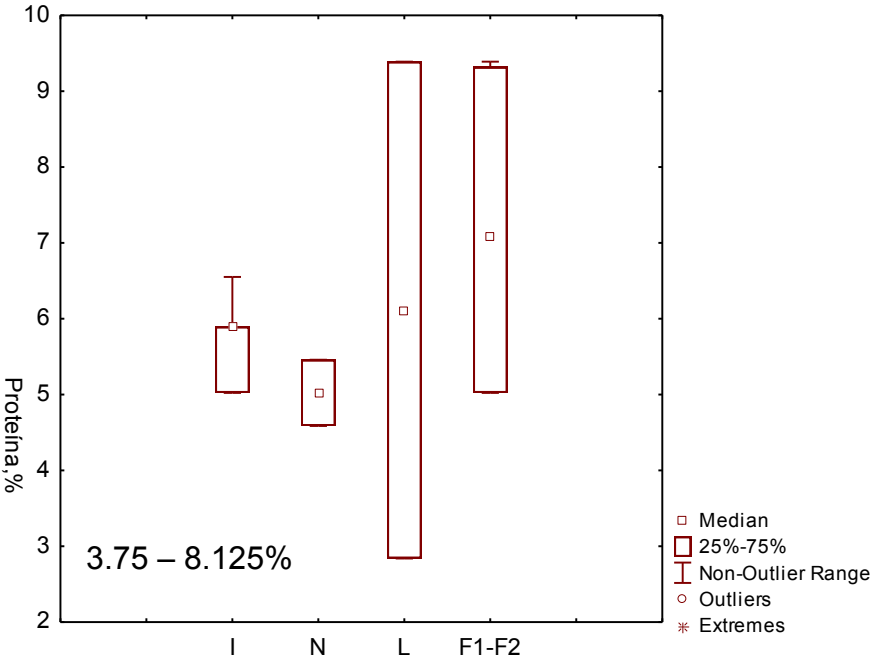


Figura 1.5. Contenido de proteína en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formulas golosina).

### 1.3.2.2. Ceniza

En relación con las cenizas las procedencias locales (L) y formulas (F1-F2), muestran una gran dispersión entre sus valores (Figura 1.6). En chocolates locales (L) tenemos un valor de la mediana de 1.70 % y 1.59 % en (F1-F2), podemos observar entonces que el grupo de datos es heterogéneo en ambos casos. La NMX-F-60-1982 especifica el rango permitido para evaluar este parámetro (1.3 – 2.5) %. Las muestras importadas (I) y nacionales (N) son más homogéneas comparadas con las otras procedencias debido a que presentan un tamaño de la caja menor. En la Figura 1.6 se observa que no hay diferencia intercuartílica, en el contenido de cenizas, con base en la procedencia de las muestras.

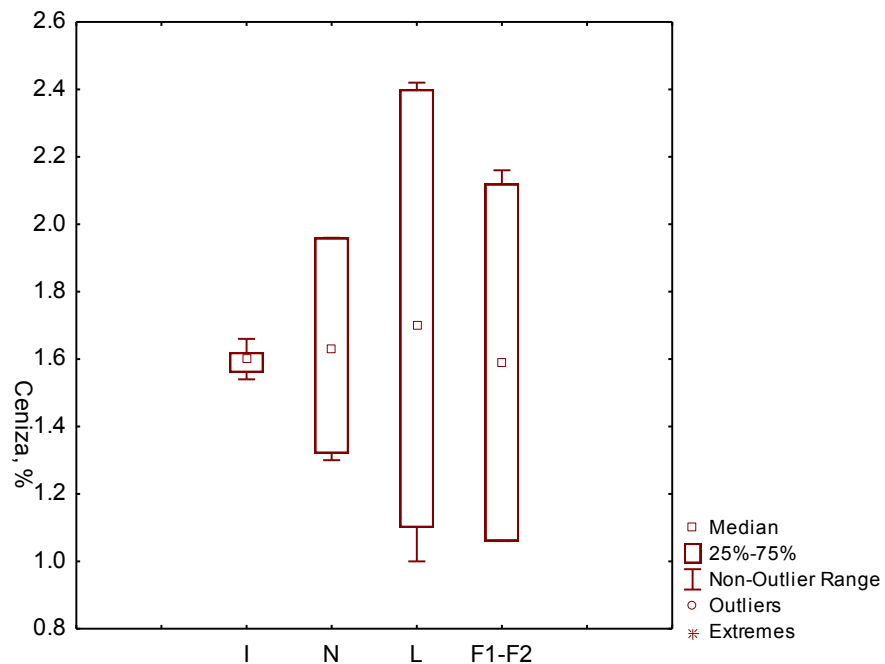


Figura 1.6. Contenido de ceniza en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formulas golosina).

### 1.3.2.3. Humedad

En los datos graficados del análisis de humedad (Figura 1.7), las muestras locales (L) presentan mayor amplitud de caja grande, lo cual indica mayor heterogeneidad en el contenido de humedad. Las muestras locales presentan un valor de mediana de 1.77 %, lo cual es considerado un valor aceptado dentro de la NMX-F-60-1982, que establece un valor máximo de humedad en los chocolates de 2.0 %.

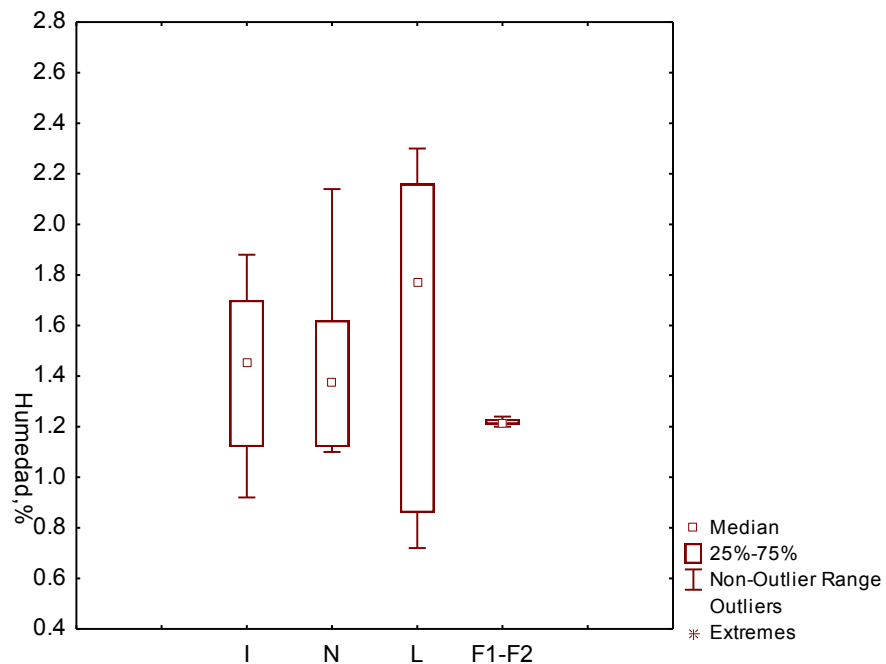


Figura 1.7. Contenido de humedad en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formulas golosina).

En la Figura 1.7 se observa que no hay diferencia intercuartilica en el contenido de humedad de las muestras de chocolate golosina de distintas procedencias. En las muestras de procedencia (N) se observa una menor dispersión de los datos comparados con las muestras locales (L) y sus datos presentan simetría es decir, la mediana está situada justo al centro de la caja, aún así el tamaño de la caja es amplio. Los datos presentan mayor homogeneidad y un valor de 1.38 %. En el caso de los chocolates de procedencia (I) se observa que la amplitud de la caja es

simétrica y la mediana (1.45%) y por tanto su lote es más homogéneo en comparación con las procedencias anteriormente descritas.

Sin embargo, las muestras de procedencia F1-F2 se observa que presentan menor dispersión pues la caja y los bigotes están muy próximos lo indica que se trata de un lote muy homogéneo y que satisface el valor de (1.22 %) establecido en la NMX-F-60-1982.

#### **1.3.2.4. Grasa**

En la Figura 1.8 se observa una mayor homogeneidad del lote analizado de contenido de grasa de las muestras de los chocolates de procedencia (L), con un valor de 29.99 %. El valor promedio obtenido coincide con los resultados publicados por Chan *et al.* (1994) para chocolates oscuros. La procedencia (N) presenta un tamaño de caja con menor amplitud y esto representa una buena homogeneidad del lote, con un valor de 26.26 %, lo cual coincide con los valores establecidos en la NMX-F-60-1982. Las muestras de chocolate (I) presentan un valor de 29.62 % coincidiendo con el resultado reportado por Chan *et al.* (1994) indicando que uno de los mejores constituyentes en los chocolates con leche es el contenido de grasa. El alto contenido de lípidos y el contenido de azúcar hace que el consumo de chocolates tenga una contribución positiva a la nutrición humana a través de alimentos energéticos y antioxidantes, principalmente polifenoles, incluyendo los flavonoides (Beckett, 2000; Whitefield, 2005).

En las formulaciones preparadas (F1-F2) se observa menos homogeneidad en los datos comparadas con las (L), su contenido de grasa es de 27.22 % lo cual es un valor que está por abajo del rango permitido (30 – 40%) dentro de la norma. En la Figura 1.8 podemos observar que no hay diferencia intercuartílicas, en el contenido de grasa, en las diferentes procedencias de chocolate.

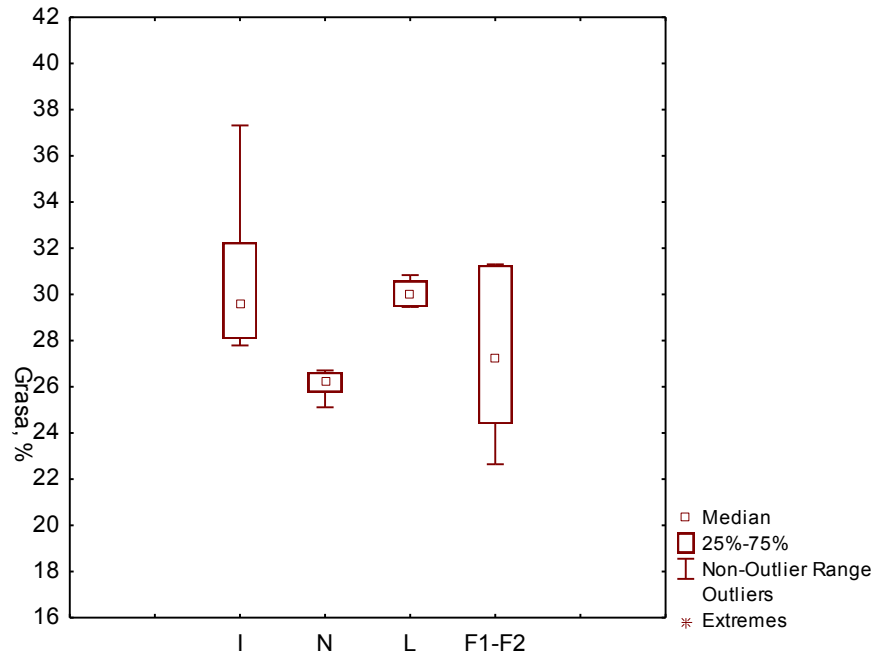


Figura 1.8. Contenido de grasa en muestras de ChG (I=importadas, N=nacional, L=local, F1-F2=formula golosina).



#### 1.4. CONCLUSIÓN

La calidad de los chocolates de diferentes procedencias: importados (I), nacionales (N) y locales (L), comercializados en el estado de Tabasco, México, y formulaciones elaboradas (FM, F1-F2), presentaron variación en los parámetros evaluados: proteína(%P), ceniza(%C), humedad (%H) y grasa (%G) comparado con los establecidos por la NMX-F-59-1964. En los ChM las muestras locales (L) que corresponden a productores de chocolates del estado de Tabasco, México, presentaron una composición más heterogénea por lo que fue posible identificar los tres grados de calidad: amargo (A-1), semiamargo (A-2) y dulce (A-3). Mientras que en las muestras nacionales (N) e importadas (I) el comportamiento de los datos fue más homogéneo debido a que solo se identificaron dos grados de calidad: semiamargo (A-2) y dulce (A-3), las muestras nacionales (N) no cumplieron en cuanto al contenido de %P y %C establecidos en la norma. La formulación elaborada (FM) solo presentó un grado de calidad: amargo (A-1). Debido a la variación en el grado de calidad de los chocolates, los parámetros analizados presentaron diferencias intercuartílicas entre procedencias. Las muestras de ChG de procedencia importada (I), nacional (N) y local (L), cumplieron en todos los parámetros analizados, en referencia NMX-F-60-1982. Las formulaciones (F1-F2) presentaron valores por debajo de los límites establecidos en la norma en el contenido de grasa.

## 1.5. LITERATURA CITADA

- Aremu, C. Y.; Abara, A. E. 1991. Hydrocyanate, oxalate, phytate, calcium and zinc in selected brands of Nigerian cocoa beverage. *Plant Foods for Human Nutrition* 42: 231-237.
- Awua, P. K. 2002. The success story of cocoa processing & chocolate manufacture in Ghana. Essex, UK: David Jamieson and Associates Press Inc.
- Beckett, S. T. 2000. The Science of Chocolate, Royal Society of Chemistry, RSC Paperbacks.
- Bracco, U. 1994. Effect of triglyceride structure on fat absorption. *Nestlé Research Centre* 60: 1002S-1009S.
- Campos, C. M. & Benedet, T. H. D. 1994. Aceitabilidade de bombons (sabor passas ao rum) – Recheio adicionado de proteínas de soja. *Boletim da Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28: 113-117.
- Carrascal Arranz U. 2008. Estadística descriptiva con Microsoft Excel 2007. AlfaOmega, México. 113-114pp.
- Chan, W.; Brown, J. and Buss, D. H. 1994. Miscellaneous foods. Supplement to McCane and Widdowson's the composition of foods. London: RSC/MAFF.
- Chevalley, J. 1999. Chocolate flow properties. In S. T. Beckett, Industrial chocolate manufacture and use. 3ra. ed. Oxford: Blackwell Science.
- Cidell, J. L.; H. C. Alberts. 2006. Constructing quality: The multinational histories of chocolate. *Geoforum* 37: 999-1007.
- CODEX STAN 141-1983, Rev. 1-2001 Norma para el cacao en pasta (licor de cacao/chocolate) y torta de cacao.
- CODEX STAN 87-1981. Norma para el chocolate. Vol 11. [http: www. Codex alimentarius.](http://www.codexalimentarius.org)

- Coe, S. and Coe, M. 1996. The true History of Chocolate. Thames and Hudson. London, U.K
- Douglas, A. L.; Marchal, G. W.; Wathen, S. A. 2005. Statistical techniques in business & economics. Mc Graw Hill. México.
- Harland, B. F. 1985. Phytate and zinc contents of coffees, cocoas, and teas. Journal of Food Science 50: 832-842.
- Holland, B.; Welch, A. A.; Unwin, J. D.; Buss, D. H.; Paul, A. A. 1991. McCance and Widdowson's the composition of foods. London: RSC/MAFF.
- NMX-F-066-S-1978 Norma Mexicana para la determinación de cenizas en alimentos. Diario Oficial de la Federación. 7 de abril de 1966.
- NMX-F-068-S-1980. Norma Mexicana para la determinación de proteínas en alimentos. Diario Oficial de la Federación. 4 de Agosto de 1980.
- NMX-F-428-1982. Norma Mexicana. Alimentos. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza). Foods. Determination of moisture (thermobalance rapid method). Dirección General de Normas. 7 de octubre de 1982.
- NMX-F-089-S-1978 Norma Mexicana que establece el método para la determinación de grasa en alimentos. Diario Oficial de la Federación. 7 de abril de 1961.
- NMX-F- 59- 1964. Norma Mexicana. Chocolate tipo amargo. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas. Diario Oficial de la Federación. 12 de marzo de 1964.
- NMX-F-60-1982. Norma Mexicana. Alimentos-chocolates con leche y sus variedades. Dirección General de Normas. Diario Oficial de la Federación. 3 de septiembre de 1982.
- Owusu-Apenten, R.K.; Marcel, D. 2002. Introducción al análisis de proteína en alimentos (Food protein Analysis: Quantitative effects on processing). Printed in the Unites States of America.

Steinberg, M. F.; Bearden, M. M.; Keen, C.L. 2003. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association* 103: 215-223.

Torelm, I. and Danielsson, R. 1998. Variations in major nutrients and minerals in Swedish foods: a multivariate multifactorial approach to the effects of season, region and chain. *Journal of Food Composition and Analysis* 11:11-31.

Whintefield, R. 2005. *Making chocolates in the factory*. Kennedy's Publications Ltd. London, UK:

**CAPITULO II. USO DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO  
(NIRS) PARA PREDECIR LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DE  
CHOCOLATES DE MESA Y GOLOSINA**

# USO DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO (NIRS) PARA PREDECIR LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE CHOCOLATES DE MESA Y GOLOSINA

## RESUMEN

La espectroscopia de infrarrojo cercano fue utilizada como un método rápido para predecir los contenidos de: proteína, humedad, ceniza y grasa en muestras de chocolates, de procedencias; importadas (I), nacionales (N), locales (L), comercializados en Tabasco, México. Un total de 31 muestras fueron analizadas: I=9, N=6, L=13 y se prepararon formulas propias (F=3). La reflectancia de los diferentes chocolates fue medida con un NIRS sin necesidad de pretratamiento o manipulación de las muestras. El algoritmo, mínimos cuadrados parciales (PLS) fue empleado como un método de regresión. Los coeficientes de correlación múltiple (RSQ) y el error estándar de predicción corregido (SEP(C)) fueron: 0.970 y 0.335, 0.971 y 0.113, 0.914 y 0.196, 0.912 y 7.821 para proteína, humedad, ceniza y grasa respectivamente. La capacidad de predicción del modelo (RPD) fue: para proteína (5), humedad (4), ceniza (3) y grasa (3), lo que significa que el uso de la metodología NIRS ofrece una alternativa para la determinación de estos cuatro parámetros en chocolates con la ventaja de tener un bajo costo y ser muy rápido comparado con los métodos químicos convencionales.

**Palabras clave:** Chocolate, Espectroscopia de infrarrojo cercano, Modelo de predicción, mínimos cuadrados parciales.

# USE OF THE ESPECTROSCOPIA OF INFRARED NEAR (NIRS) TO PREDICT THE PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF CHOCOLATES OF TABLE AND DELICACY

## ABSTRACT

The espectroscopia of infrared near was used as a rapid method to predict the contents of: protein, moisture, ash and fat in samples of chocolates, of origins; imported (I), national (N), local (L), commercialized in Tabasco, Mexico. A total of 31 samples were analyzed: I=9, N=6, L=13 and there were prepared own formulae (F=3). The reflectance of the different chocolates was measured by a NIRS without need of pretratamiento or manipulation of the samples. The algorithm, square partial minimums (PLS) it was used as a method of regression. The coefficients of multiple correlation (RSQ) and the standard mistake of prediction corrected (SEP (C)) was: 0.970 and 0.335 , 0.971 and 0.113 , 0.914 and 0.196, 0.912 and 7.821 for protein, moisture, ash and fat respectively. The capacity of prediction of the model (RPD) was: for protein (5), moisture (4), ash (3) and fat (3), which means that the use of the methodology NIRS offers an alternative for the determination of these four parameters in chocolates with the advantage of having a low cost and of being very rapid compared with the chemical conventional methods.

**Key words:** Chocolate, Espectroscopia of infrared near, Model of prediction, square partial minimums.

## 2.1. INTRODUCCIÓN

El mercado ofrece una gran variedad de chocolates confeccionados con diferentes ingredientes y el valor nutricional varía considerablemente, por ejemplo, un chocolate oscuro tiene una alta proporción de sólidos de cacao y su valor nutricional es alto; reteniendo más valor nutricional del cacao que un chocolate con leche; en el cual, la cantidad de cacao es baja (<http://www.icco.org>).

Todos los alimentos incluyendo los productos de cacao y chocolate están relacionados con la cantidad y el tipo de carbohidratos, grasas y proteínas que estos contienen. El valor nutrimental de estos varía con la cantidad de ingredientes que contienen (Moros *et al.*, 2007).

En la Unión Europea los productos alimentarios están obligados a mostrar la información nutrimental en sus empaques (<http://europa.eu/legislation>). En México, las Normas Oficiales Mexicanas establecen los límites permisibles para el contenido de proteína, humedad, ceniza y grasa que deben registrar las etiquetas de los chocolates que se introducen en el mercado (NOM-186-SSA1/SCFI-2002).

Ohene *et al.* (2007) explica la importancia de las grasas en la calidad de los chocolates. Los ácidos grasos dependen de las condiciones de crecimiento y de origen de cacao (Talbot, 1999). El uso de grasas vegetales causa un efecto significativo en la textura los chocolates (Beckett, 2000). Legalmente las grasas vegetales son permitidas en un máximo del 5% en Estados Unidos (Cocoa and Chocolate Products Regulations, 2003)

Los niveles de minerales esenciales para nuestra salud, que producen cambios en los alimentos son debido a diferentes razones: origen biológico (variedad de la planta, fertilización y factores anuales) (Nilva *et al.*, 2006). Torelm & Danielsson (1998) asumen la relación de otro factor, tal como la diferencia del proceso de la producción del chocolate.



Recientemente el uso de la espectroscopia en infrarrojo cercano (NIRS) ha sido utilizada para determinar la calidad de los alimentos, tales como: la determinación de arsénico en pimiento rojo (Moros *et al.*, 2008), la calidad fisicoquímica del camote (Guoquan *et al.*, 2006), predicción fisicoquímica de carne (Tejerina *et al.*, 2009), composición de leche en polvo (Wu *et al.*, 2008), análisis de micotoxinas en pimiento rojo (Hernández-Hierro *et al.*, 2008), caracterización química de quesos europeos (Karoui *et al.*, 2006), predicción de la calidad de los chocolates con mediciones NIRS (Davies *et al.*, 1991), discriminación rápida de variedades de chocolate usando NIRS (Zhang *et al.*, 2008), determinación cuantitativa del contenido de proteína en chocolates usando NIRS (Gao *et al.*, 2008), determinación rápida de sucrosa en chocolate usando espectroscopia de infrarrojo cercano (Da costa, 2009).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de la tecnología NIR como una herramienta para la determinación rápida de los parámetros físico-químicos de los chocolates de diferentes procedencias comercializados en el estado de Tabasco, México.

## 2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.2.1. Selección de las muestras

Se adquirieron una muestra de cocoa en polvo y 22 muestras de chocolate de diferentes procedencias, fueron adquiridas en establecimientos comerciales en el estado de Tabasco, México. Además de la preparación de tres formulaciones de chocolate, uno de mesa y dos de golosina.

Las muestras fueron clasificadas como importadas (I), nacionales (N) y locales (L); así como chocolate golosina (F1 y F2) y chocolate de mesa (FM). Para su análisis las muestras fueron molidas, tamizadas (0.5 mm) y colocadas en botes de 500 g; etiquetadas con un número consecutivo de laboratorio para su rastreabilidad.

Los parámetros medidos en las muestras de chocolate, fueron proteína, humedad, ceniza y grasa; siendo cada muestra analizada por triplicado. Con lo cual se obtuvieron 62 datos (22 x 3).

En la Tabla 2.1 es presentado un resumen de las propiedades medidas al grupo de entrenamiento (conjunto de calibración), formado con 59 muestras. Mientras que el grupo de validación externa del modelo de calibración estuvo formado por siete muestras, incluidas las formulaciones (F1, F2 y FM), el resumen de los parámetros de este grupo es presentado en la Tabla 2.2.

Tabla 2.1. Parámetros fisicoquímicos de chocolates comercializados en Tabasco usados en el conjunto de calibración.

Parámetro	Rango (%)	Media (%)	SD
Proteína	3.057 - 10.045	5.731	1.688
Humedad	0.320 - 4.780	1.375	0.901
Ceniza	0.760 - 2.540	1.570	0.413
Grasa	12.412 - 39.250	24.664	6.641

Tabla 2.2. Parámetros fisicoquímicos de chocolates comercializados en Tabasco usados en la validación externa del conjunto de datos.

Parámetro	Rango (%)	Media (%)	SD
Proteína	4.149 - 9.320	5.699	1.687
Humedad	0.380 - 1.500	0.971	0.350
Ceniza	1.000 - 2.520	1.617	0.547
Grasa	15.236 - 32.024	25.143	6.511

### 2.2.2. Análisis fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos que se realizaron a los chocolates fueron: la determinación de proteína, humedad, cenizas y grasas, establecidos en el CODEX STAN 87-1981 (norma para el chocolate y los productos del chocolate).

### 2.2.3. Espectroscopia de infrarrojo cercano

El Espectrómetro de Infrarrojo Cercano, es modelo Versatile Agri Analyzer™6500 System II Vertical Type 461008, Serial No. 9503 100-240 Vac max 200 W, 50-60 Hz de la empresa FOSS NIRSystems. El intervalo que cubre el escáner es de 400 a 2500 nm, con superficie holográfica de 570 líneas por mm y una distancia de 1.75  $\mu\text{m}$  entre líneas. El instrumento posee un software de “escaneo” ISIScan versión (versión 2.81 Copyright 2006) instalado en una computadora (Acer AMD Sempron TM Processor 3200 + 1.81 GHz, 448 MB de RAM). Para el manejo de la base de datos espectrales, se utilizó un software llamado WinISI. Los datos de reflectancia se guardaron como el logaritmo (1/R) (donde R= reflectancia) a 2 nm de intervalo (1050 datos por muestra). (Alomar y Fuchslocher, 1998).

### 2.2.4. Análisis estadístico

Con el objeto de establecer una ecuación de calibración que asocie las variables proteína, ceniza, humedad y grasa de los chocolates de diferentes procedencias como variable Y (matriz de referencia) y la variable X (matriz datos del espectro)

(Cen *et al.*, 2006) fue utilizada la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS).

Para obtener una óptima ecuación de calibración en cada parámetro evaluado, los datos fueron sometidos a transformaciones usando tratamientos matemáticos como son: Baseline Correct, Normalize, Smooth y Multiply. Los puntos muy dispersos (outlier) o espectros fuera del conjunto de datos provocan un aumento en la varianza y por consiguiente hay que eliminarlos; para lo cual fue usada la prueba de F y la distancia de Mahalanobis, como el criterio de detección. Considerando la mejor ecuación a aquella que permita un mayor coeficiente de correlación (RSQ) y un menor error estándar de calibración y de validación cruzada (SEC y SECV).

Para la validación cruzada, el conjunto de muestras de calibración, fue dividido en 8 grupos, utilizando uno de ellos para comprobar los resultados (predicción) y los 7 restantes para construir el modelo de calibración para cada parámetro evaluado. Los valores obtenidos por el método de referencia y los proporcionados por el modelo de calibración NIR fueron comparados, obteniendo el error estándar de predicción (SEP) y el error estándar de de predicción corregido por el BIAS, SEP(C).

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Información espectral

Los espectros fueron registrados para cada muestra de chocolate como se observa en la Figura 2.1 de acuerdo a su procedencia: importados, nacionales, locales y formulas. La región espectral comprendida fue entre 1000 y 2400 nm.

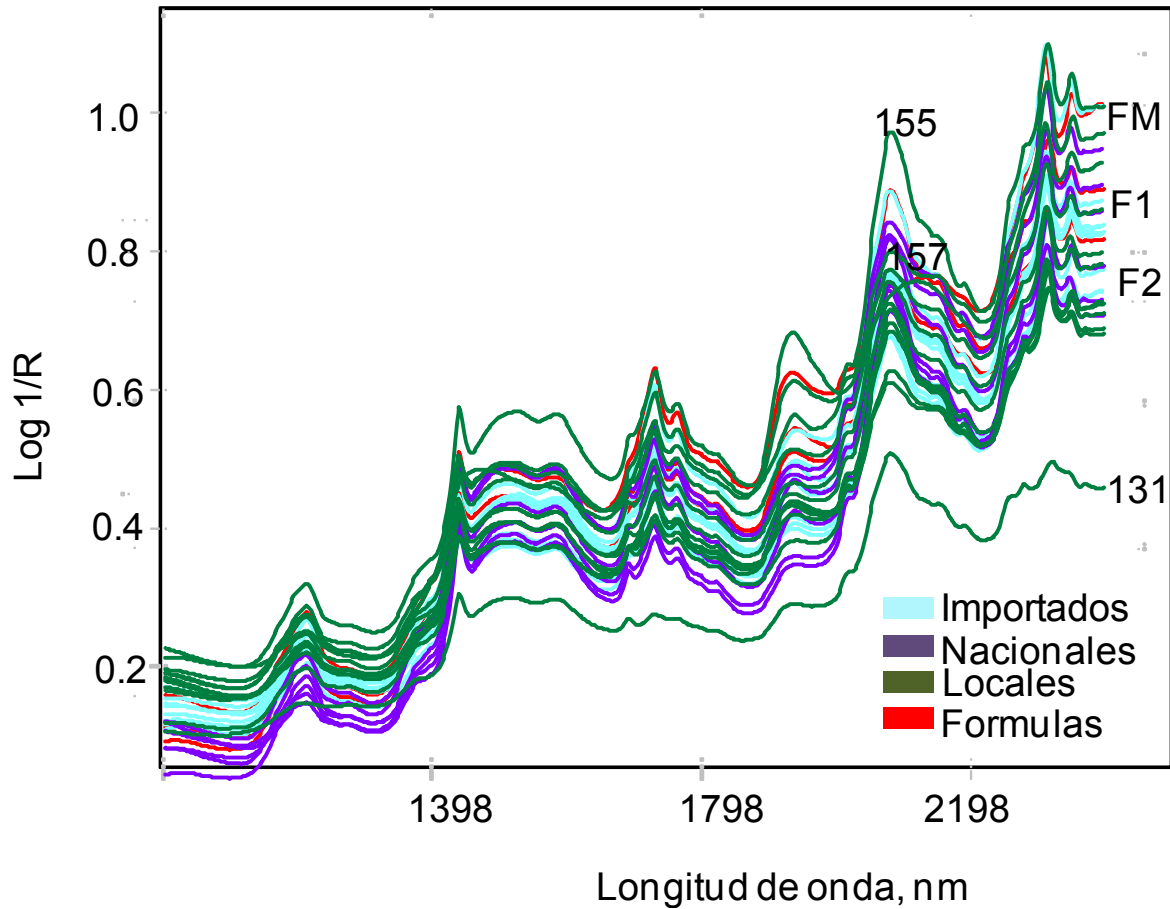


Figura 2.1. Espectro NIRS del conjunto de muestras de chocolates de diferentes procedencias.

En los espectros de las distintas muestras de chocolate se observa que son más homogéneas las procedencias importadas, nacionales y las formulaciones preparadas a nivel laboratorio en comparación con las procedencias locales, las

cuales, presentan mayor heterogeneidad en su comportamiento espectral, debido a la separación más evidente (Figura 2.2.c) en las huellas de la muestra.

En la muestra 131 se observa, en el rango de longitud de onda de 1500 – 2000 nm, una intensidad baja (disminución de picos) en la zona NIR comparada con las otras muestras, hay poca presencia de grupos aromáticos, hidroxilos y más presencia de grupos aminos (Colthup *et al.*, 1990), debido a que esta muestra es cocoa en polvo.

Sin embargo, la muestra 155 presenta la huella espectral más sobresaliente de todo el conjunto de espectros con picos más elevados en un rango de 1600 – 2000 nm. La presencia de mayor cantidad de pasta de cacao y de contenido de leche en esta muestra se ve reflejada en este rango, ya que la cantidad de nitrógeno proteico es más elevado.

En general, los chocolates de procedencia locales presentan mayor heterogeneidad tanto en sus huellas espectrales como en sus análisis fisicoquímicos, esto debido principalmente a la alta calidad natural de la pasta de cacao que contienen. La cual, no recibe algún tipo de pretratamiento (alcalinización) para la elaboración de dichos chocolates.

Las formulas elaboradas a nivel laboratorio, fueron indicadores importantes para comparar los espectros de procedencia importados y nacionales. La formula FM presentó en el rango de 1798 – 2198 nm una intensidad baja, debido a la diferencia de composición de los ingredientes: azúcar, pasta de cacao y grasa con los que se preparó la muestra.

Se reflejan entonces los componentes de hidratos de carbono entre los cuales se puede mencionar la glucosa la cual es la responsable del sabor dulce de los chocolates. Sin embargo, en este mismo rango de longitud de onda la F1 y F2 presentan diferencia en la intensidad, ya que para F1 es baja y para F2 es de intensidad alta, esto se puede explicar debido a la concentración de azúcar en ambas formulaciones; la F2 contiene más cantidad de azúcar que la F1 y esta

tendencia se refleja claramente en el comportamiento de los espectros mostrados en la Figura 2.2.d.

Los resultados de Moros *et al.* (2007) coinciden con los resultados obtenidos en esta investigación. A partir de los espectros NIR fue posible distinguir picos a 1728 nm, 1761 nm, y 1213 nm, que se ajustan a los enlaces C-H en grupos CH<sub>2</sub> y C=C. Los espectros también mostraron amida II y III en las bandas a 2010 nm y 2050 nm lo que significa que los chocolates contienen mínimas cantidades de proteínas. Los picos de 1440 nm y 2080 nm indican el contenido de azúcar. Las bandas localizadas a 2304 y 2343 nm especifican grasa debido a la presencia de la leche en el chocolate.

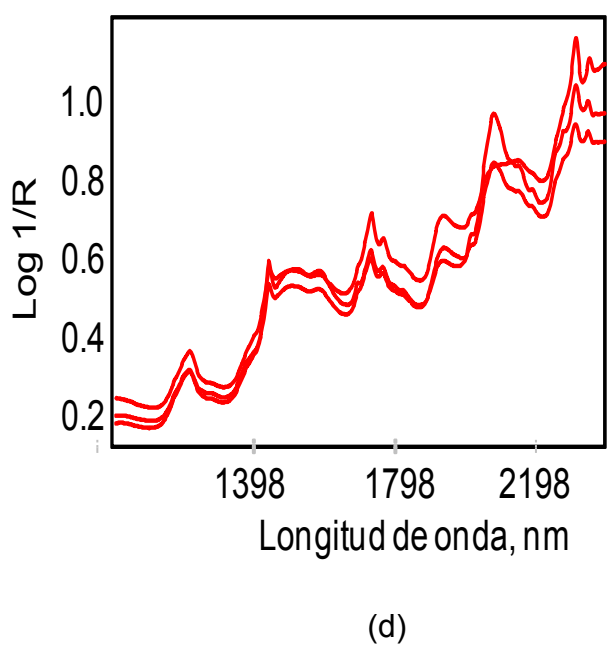
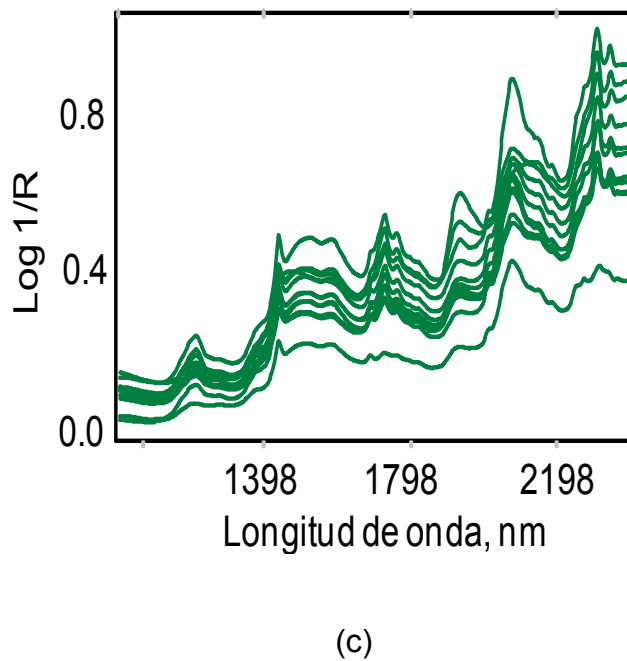
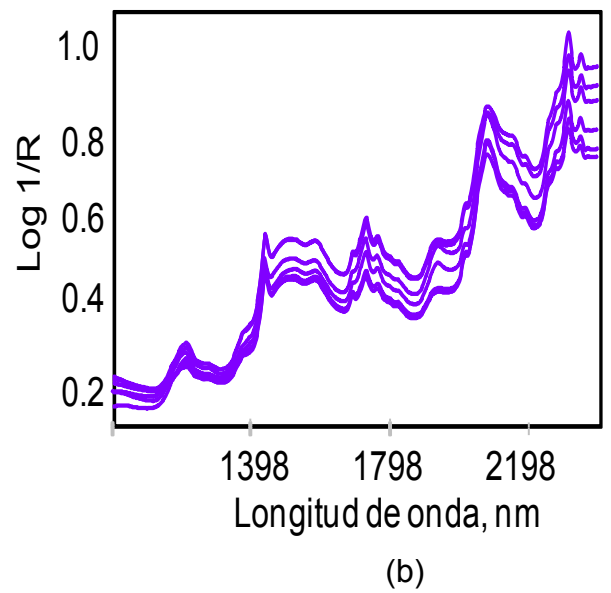
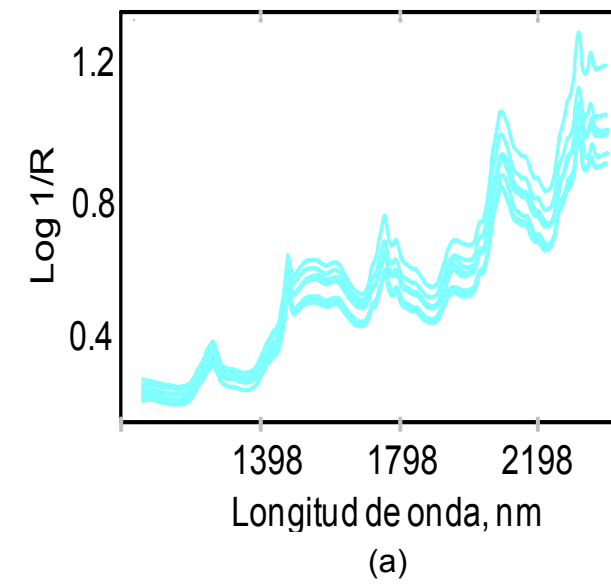


Figura 2.2. Espectros de procedencias de chocolates: (a) Importados, (b) Nacionales, (c) Locales, (d) Formulaciones.



### **2.3.2. Ecuaciones de calibración**

Sobre el conjunto de los 66 espectros se realizaron los tratamientos matemáticos que indicaron el número de componentes principales (factores) que describieron el modelo. Para proteína la variabilidad espectral explicada fue de 99.08%, y fueron requeridos cuatro componentes principales; mientras que para la humedad, cinco componentes principales explican el 98.80% de la variabilidad espectral; para cenizas fueron utilizados cinco componentes principales con un 98.77% de la variabilidad espectral explicada, finalmente para la grasa fueron utilizados cinco componentes principales con un 99.32% de la variabilidad espectral explicada.

El criterio para la detección de los puntos anómalos tomó en cuenta el uso de la prueba de F y la distancia de Mahalanobis, las cuales determinaron la eliminación de los outliers, los cuales provocan un aumento en la varianza o una distorsión en las covarianzas. Esto significó el reanudar el set de calibración con la eliminación de nueve muestras para la construcción de los modelos de proteína, humedad y ceniza; mientras que para las muestras de grasa se eliminaron 11.

Para la obtención de las ecuaciones de calibración de los parámetros; proteína, humedad, ceniza y grasa se utilizó el método de mínimos cuadrados parciales (PLS), en el cuál se optimizó la mejor ecuación de calibración para cada parámetro considerado en las muestras de chocolate.

### **2.3.3. Validación de la ecuación de calibración**

#### **2.3.3.1. Validación interna**

El modelo de evaluación fue desarrollado por validación cruzada. El método consistió en dividir el set de muestras en 8 grupos; 7 grupos se utilizaron para construir el modelo de calibración (el modelo se repitió tantas veces como grupos hubieron) para cada parámetro (proteína, humedad, ceniza y grasa); estos resultados se muestran en el resumen de la Tabla 2.3. Donde N es el número de muestras usadas para obtener la ecuación de calibración después de remover los puntos outliers. Los tratamientos matemáticos para los parámetros evaluados son

también mostrados. Los modelos de calibración encontrados presentan un valor de correlación superior a 0.938, lo cual es considerado excelente (Karoui *et al.*, 2006). La Tabla 2.3, muestra para cada parámetro; los diferentes tratamientos matemáticos que se realizaron, los valores superior e inferior (rango) correspondiente a las muestras seleccionadas, los valores del coeficiente de correlación (RSQ) y el menor error estándar de calibración y validación cruzada (SEC y SECV). Tomando en cuenta que cuando  $SECV > SEC$ , en las ecuaciones obtenidas, el modelo de calibración es válido para predecir muestras desconocidas. Siendo en todos los casos mayor el SECV que el SEC.

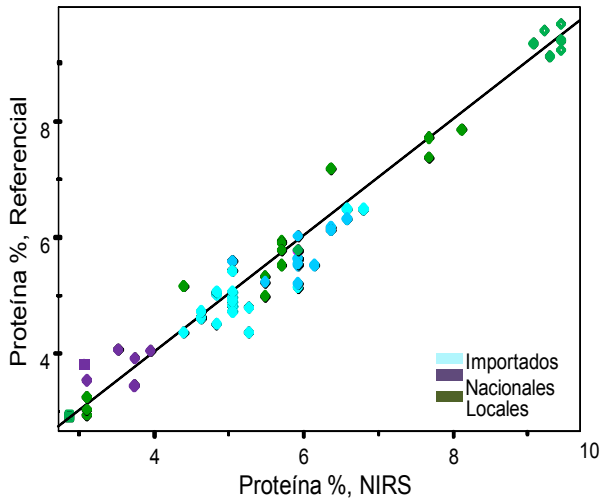
La Figura 2.3 muestra la validación interna para los parámetros estudiados en los chocolates. La Figura 2.3. (a), representa el modelo para proteína; se observa que las 57 muestras presentaron un mayor coeficiente de correlación de 0.938; las muestras de procedencia local obtuvo más heterogeneidad en el contenidos de proteína con respecto a las otras procedencias en el método de referencia y predicho por NIRS, lo cual, se observa por la distribución de las muestras a lo largo de la línea ajustada. La Figura 2.3. (b), representa el modelo de calibración para el contenido de humedad, se observa que las 61 muestras presentaron un coeficiente de correlación de 0.953, encontrándose en las procedencias locales valores de humedad mayores al 2.0 %. En la Figura 2.3. (c), el modelo de calibración para el contenido de cenizas presenta el mayor coeficiente de correlación de 0.938 y las muestras de procedencia local representan un alto contenido mineral en comparación con las otras procedencias. La Figura 2.3. (d), representa el modelo de calibración para el contenido de grasa; se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.980 y el contenido mayor en grasa presentan las muestras importadas en comparación con las otras procedencias.

Los resultados obtenidos confirman que sí es posible determinar proteína, humedad, ceniza y grasa en muestras de chocolates mediante el uso de la tecnología NIRS.

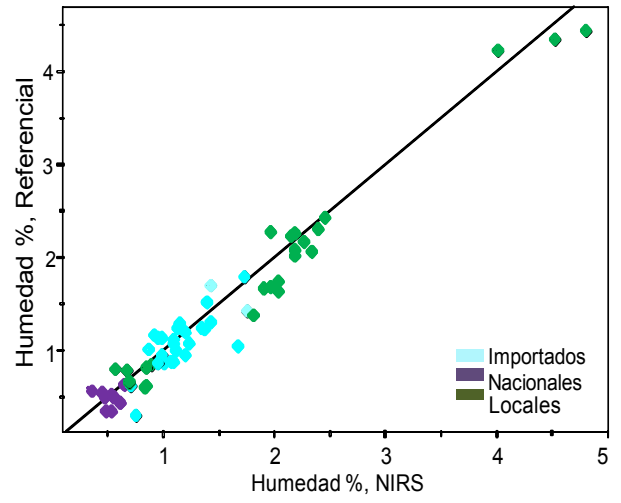
Tabla 2.3. Descriptores estadísticos de calibración para proteína, humedad, cenizas y grasa en muestras de chocolate.

Parámetro	N	Tratamiento matemático	Rango	RSQ	SEC	SECV	No. fact. PLS	Grupo Cross-val
Proteína	57	Baseline Correct Normalize Smooth	3.06 - 9.39	0.938	0.000	0.123	2	7
Humedad	61	Baseline Correct Normalize Smooth Multilpy	0.32 - 4.78	0.953	0.010	0.038	2	7
Ceniza	56	Baseline Correct Normalize Smooth Multiply	0.76 - 2.54	0.938	0.000	0.011	2	7
Grasa	55	Baseline Correct Normalize Smooth	14.93 - 37.31	0.980	0.022	0.841	2	7

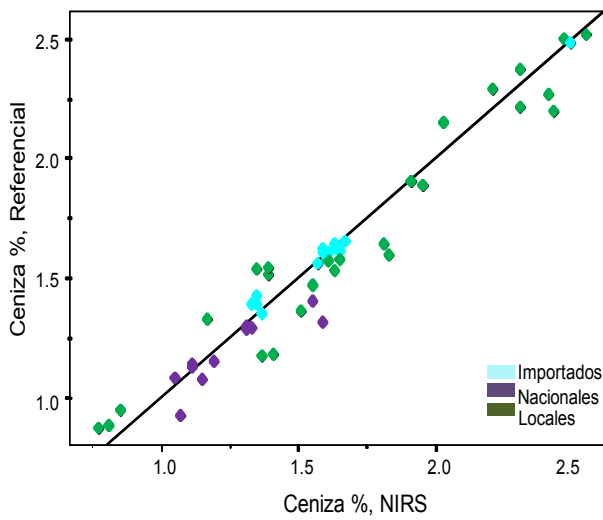
SD=desviación estándar de los datos de laboratorio; RSQ=coeficiente de correlación; SEC=error estándar de calibración; SECV=error estándar de validación cruzada; N=no. de muestra; cross val=validación cruzada.



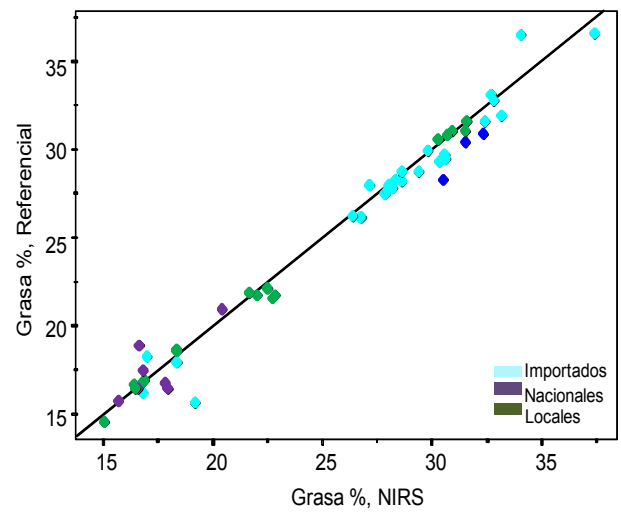
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 2.3. Modelos de calibración y Validación interna para (a) Proteína, (b) Humedad, (c) Ceniza, (d) Grasa.

### 2.3.3.2. Validación externa

Para comprobar la robustez del modelo de calibración se realizó una validación externa con un conjunto de siete muestras de chocolates que no pertenecen al colectivo de calibración; pero que presentan un rango de concentración dentro de la aplicabilidad de las ecuaciones obtenidas en la Tabla 2.4.

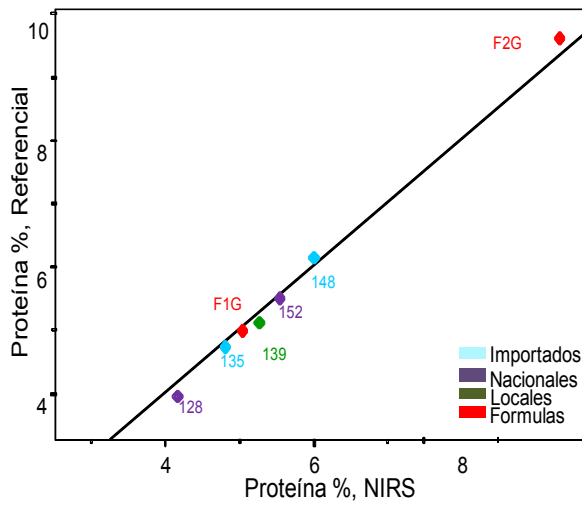
La capacidad del modelo fue evaluada usando la función de relación RPD, el cual es definido como la relación entre la desviación estándar del método químico de referencia y el error estándar (SD/SEP). Si esta relación es mayor que 2.5, entonces el modelo de calibración es adecuado y las ecuaciones resultan con elevado nivel de predicción (Murray, 1993). Por tanto los valores de RPD obtenidos con las muestras usadas para proteína, humedad, ceniza y grasa fueron de 5, 4, 3 y 3, respectivamente. Por lo cual, estos resultados infieren que la técnica NIRS ofrece una alternativa de determinación de proteína, humedad, ceniza y grasa en chocolates.

Los resultados proporcionados por NIRS y los obtenidos por métodos químicos de referencia se comparan utilizando el test t de Student para valores apareados (Ramis *et al.*, 2001). Los niveles de confianza obtenidos aplicando dicho test (Tabla 2.5), son 0.42, 1.59, 0.70 y 0.91 para proteína, humedad, ceniza y grasa, respectivamente. Como el nivel de confianza, para dichos parámetros es mayor que 0.05 (elegido como mínimo) indica entonces que no hay diferencias estadísticas significativas entre los resultados, por lo que se concluye que ambos métodos son comparables. Esto se representa de manera visual en la Figura 2.4; en la cual, se correlacionan los valores obtenidos con el método de referencia y la predicción NIRS.

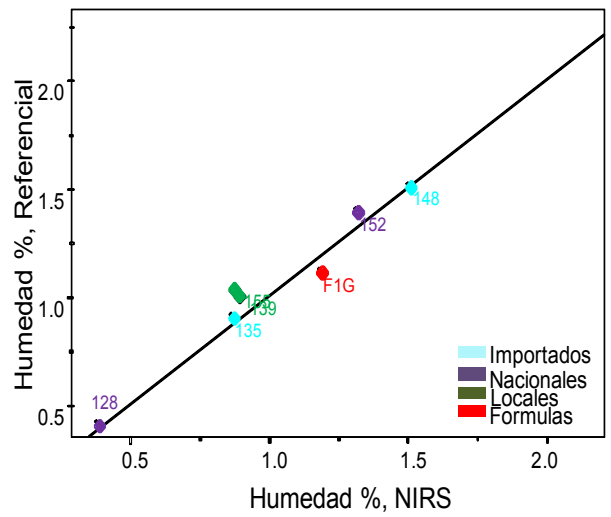
Tabla 2.4. Descriptores estadísticos de validación interna para proteína, humedad, cenizas y grasa en muestras de chocolate.

Parámetro	N	Tratamiento matemático	SD	Rango	RSQ	SEP	SEP(C)	No. fact. PLS	RPD
Proteína	7	Baseline Correct	1.688	4.15 - 9.32	0.970	0.416	0.335	2	5
		Normalize Smooth							
Humedad	7	Baseline Correct	0.419	0.38 - 1.50	0.971	0.066	0.113	2	4
		Normalize Smooth							
		Multilpy							
Ceniza	7	Baseline Correct	0.547	1.00 - 2.52	0.914	0.182	0.196	2	3
		Normalize Smooth							
		Multiply							
Grasa	7	Baseline Correct	6.513	15.23 - 32.02	0.912	2.142	2.169	2	3
		Normalize Smooth							

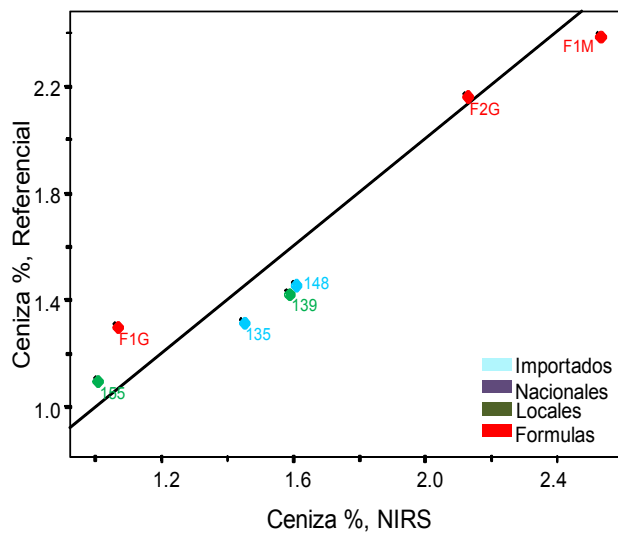
SD=desviación estándar de los datos de laboratorio; RSQ=coeficiente de correlación; SEP=error estándar de predicción; SEP(C)=error estándar de predicción corregido; RPD=relación de desviación de la predicción (SD/ SEP(C)).



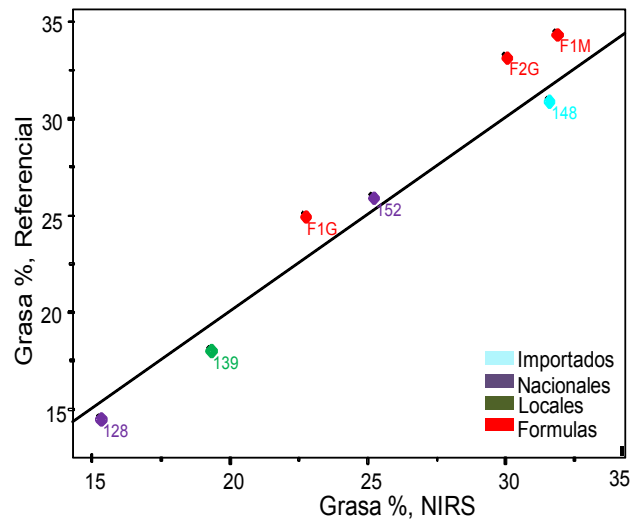
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 2.4. Modelos de validación externa para (a) Proteína, (b) Humedad, (c) Ceniza, (d) Grasa.

Tabla 2.5. Validación externa de los modelos de calibración mediante la prueba de t de Student.

Parámetro	$p$ (nivel de significancia)	Media residual	RMSE
Proteína	0.42	0.053	0.367
Humedad	1.59	0.106	0.193
Ceniza	0.70	0.052	0.215
Grasa	0.91	0.747	2.376



## **2.4. CONCLUSIONES**

El uso de la tecnología NIRS puede ser aplicado en la caracterización de chocolates como una herramienta analítica para el control de calidad en cuanto al contenido de proteína, humedad, ceniza y grasa. Este estudio muestra que se pueden construir modelos de calibración robustos para cada parámetro, evaluando la capacidad predictiva y comparando los resultados obtenidos por el método de referencia y los predichos por NIRS, con el uso del estadístico t de Student para valores apareados, se encontró que no existe diferencia significativa en ambos métodos.

Con la aplicación de la tecnología NIRS se pueden realizar análisis cualitativos y cuantitativos en muestras de chocolate. Con lo cual, la industria alimentaria puede mejorar el control de calidad de los productos y materias primas, ahorrando en el tiempo de análisis, en los recursos humanos y sin destruir la muestra.

## 2.5. LITERATURA CITADA

- Alomar, D., Fuschlocher, R. 1998. Fundamentos de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como metodo de analisis de forrajes. En: Agrosur, Vol 26, N°1, Valdivia , Chile. 19.
- Beckett, S. T. 2000. The Science of Chocolate, Royal Society of Chemistry, RSC Paperbacks.
- Cen, H. Y., He, Y., Huang, M. 2006. Measurement of soluble solids contents and pH in orange juice using chemometrics and Vis-NIRS. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 7437-7443.
- Cocoa and Chocolate Products Regulations 2003. Cocoa and chocolate products regulations. U. K: Food Standard Agency.
- CODEX STAN 87-1981. Norma para el chocolate. Vol. 11. [http: www. Codex alimentarius](http://www.codexalimentarius).
- Colthup, N. B., Daly, L. H., and Wiberley, S.E. 1990. Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, Academic Press, New York,
- Da Costa, F. P. A. 2009. Rapid determination of sucrose in chocolate mass using near infrared spectroscopy. Analytica Chimica Acta. 631:206-211.
- Davies, A. M. C., Franklin, J. G., Grant, A., Griffiths, N. M., Shepherd, R. and Fenwick, G. R. 1991. Prediction of chocolate quality from near-infrared spectroscopic measurements of the raw cocoa beans. Institute of Food Research 2:161-172.
- Gao, Q., Zhang, B., Deng, L., Wu, X., Xu, Y. 2008. Quantitative determination of protein content in chocolates using near infrared reflectance spectroscopy with GSVM method. IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics, ROBIO 2008. 4913128:955-960.

Guoquan L., H. Huang, D. Zhang. 2006. A Prediction of sweetpotato starch physiochemical quality and pasting properties using near-infrared reflectance spectroscopy. *Food Chemistry* 94:632-639.

Hernández-Hierro J.M., R.J. García-Villanoba, I. González-Martín. 2008. Potential of near infrared spectroscopy for the analysis of mycotoxins applied to naturally contaminated red paprika found in the Spanish market. *Analytica Chimica Acta* 622:189–194.

<http://europa.eu/legislation>

<http://www.icco.org> (international Cocoa Organization)

Karoui R., A. Mounem M., E. Dufour, L. Pillonel, E. Schaller, J. De Baerdemaeker, J-O. Bosset. 2006. Chemical characterisation of European Emmental cheeses by near infrared spectroscopy using chemometric tools. *International Dairy Journal* 16: 1211-1217.

Moros J., F. A. Iñon, S. Garrigues, M. de la Guardia. 2007. Near-Infrared diffuse reflectance spectroscopy and neural networks for measuring nutritional parameters in chocolate samples. *Analytica Chimica Acta*. 584: 215-222.

Moros J., I. Llorca, M. L. Cervera, A. Pastor, S. Garrigues, M. de la Guardia. 2008. Chemiometric determination of arsenic and lead in untreated powdered red paprika by diffuse reflectance near – infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* 613: 196 - 206.

Murray, I. Forage analysis by near infra-red reflectance spectroscopy in:  
Sward Measurement Handbook. Second edition, British Grassland Soc, UK, 1993, pp 285-312

Nilva A. R. P., E. de Oliveira, S. Cadore. 2006. Study of the mineral content of chocolate flavoured beverages. *Food Chemistry*. 95: 94-100.

- NOM-186-SSA1/SCFI-2002. Norma Oficial Mexicana, Productos y servicios: Cacao, productos y derivados. I Cacao. II Chocolate. III Derivados. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial. <http://www.salud.gob.mx/>
- Ohene afoakwa, E., A. Paterson, M. Fowler. 2007. Factor influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. *Food Science & Technology* 18: 290–298.
- Ramis R. G., M.C. García A-C. 2001. *Quimiometria*. Ed. SINTESIS. Madrid, España. pp: 56–70.
- Talbot, G. 1999. Chocolate Temper. In S. T. Beckett (Ed.), *Industrial chocolate manufacture and use*. 3ra. Ed. Oxford:Blackwell Science. pp: 218-230.
- Tejerina D., M.M. López-Parra, S. García-Torres. 2009. Potential used of infrared reflectance spectroscopy to predict meat physico-chemical composition of guinea fowl (*Numida meleagris*) reared under different production systems. *Food Chemistry* 113: 1290 – 1296.
- Torelm, I., & Danielsson, R. 1998. Variations in major nutrients and minerals in Swedish foods: a multivariate multifactorial approach to the effects of season, region and chain. *Journal Food Composition and Analysis*. 11: 11–31.
- Wu D., Y. He, S. Feng. 2008. Short-wave near-infrared spectroscopy analysis of major compounds in milk powder and wavelength assignment. *Analytica Chimica Acta* 610: 232 – 242.
- Zhang, B., Deng, L., Gao, Q., Wu, X., Xu, Y. 2008. Fast discrimination of chocolate varieties using near infrared spectroscopy. *IEEE International Conference on Automation and Logistics* 4636245: 730-735.

### **CAPITULO III. CONCLUSIONES GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN**

## **CONCLUSIONES GENERALES**

Los chocolates de diferentes procedencias comercializados en el estado de Tabasco, presentaron variación en los parámetros de proteína, ceniza, humedad y grasa cuando se compararon con los valores establecidos en la NOM-F-51-1964 para chocolates de mesa (ChM), y la NOM-F-60-1982 para chocolates golosina (ChG).

Los chocolates de mesa (ChM) en las muestras locales (L) presentaron una composición con mayor variación en sus parámetros (heterogeneidad), identificando tres grados de calidad: amargo (A-1), semiamargo (A-2) y dulce (A-3). Las muestras nacionales (N) e importadas (I) presentaron un comportamiento más homogéneo identificando solo dos grados de calidad: semiamargo (A-2) y dulce (A-3), solo las muestras nacionales (N) no cumplieron en cuanto al contenido de %P y %C

La calidad de los chocolates golosina (ChG) cumplieron en todas las procedencias analizadas con los valores mínimos establecidos en la norma.

Con el uso de la espectroscopia NIR como una prueba rápida y no destructiva aplicada al control de calidad de los chocolates, se obtuvieron modelos de calibración con mayores coeficientes de correlación RSQ altos para proteína, humedad, ceniza y grasa respectivamente y se obtuvieron modelos robustos para predecir muestras desconocidas.

Con la aplicación estadística de una prueba de t para muestras apareadas a los resultados obtenidos por los métodos convencionales (laboratorio) y los predichos por el NIRS no se encuentra diferencia estadísticas; por tal razón la tecnología NIRS es útil para evaluar los parámetros de la calidad de los chocolates proporcionando información similar a la obtenida por los métodos convencionales.