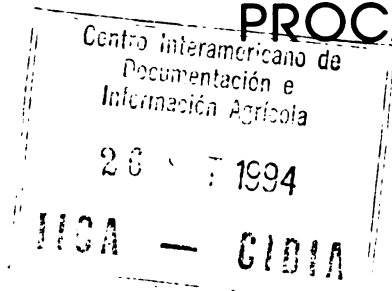


IICA-CIDIA

ISSN-0534-5391



MANUAL PARA ANALISIS DE CACAO EN LABORATORIO

Christopher Stevenson
James Corven
Guillermo Villanueva

RED REGIONAL DE GENERACION Y TRANSFERENCIA
DE TECNOLOGIA EN CACAO (PROCACAO)

PROGRAMA II
GENERACION Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGIA

IICA
DM/MA/ISC-
93-06
BV-2613

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
Marzo, 1993.

Derechos reservados. Prohibida la reproducción total o parcial de este documento sin autorización escrita del IICA.

Las ideas y planteamientos contenidos en los artículos firmados son propios de los autores y no representan necesariamente el criterio del IICA.

El Centro Interamericano de Documentación e Información Agrícola (CIDIA), a través de su Servicio Editorial e Imprenta, es responsable por la revisión estilística, levantado de texto, montaje, fotomecánica e impresión de esta publicación.

Stevenson, Christopher

Manual para análisis de cacao en laboratorio / Christopher Stevenson, James Corven, Guillermo Villanueva. — San José, C.R. : Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Programa de Generación y Transferencia de Tecnología. Red Regional de Generación y Transferencia de Tecnología en Cacao, 1993.

68 p. ; 23 cm. — (Serie Publicaciones Misceláneas / IICA, ISSN 0534-5391 ; no. A1/SC-93-06)

1. Cacao — Análisis — Manuales de laboratorio. 2. Control de calidad — Manuales de laboratorio. I. Corven, James. II. Villanueva, Guillermo. III. IICA. IV. Título. V. Serie.

AGRIS QO4

DEWEY 664.07

SERIE PUBLICACIONES
MISCELANEAS

00000771

ISSN-0534-5391
A1/SC-93-06

Marzo, 1993
San José, Costa Rica

INDICE

PRESENTACION	5
INTRODUCCION	7
MUESTRA DE ALMENDRAS DE CACAO	9
Materiales	9
Procedimiento	9
PRUEBA DE CORTE Y CARACTERISTICAS FISICAS	13
Prueba de corte	13
Materiales	13
Procedimiento	13
Interpretación de la prueba de corte	15
Características físicas	19
Prueba para el peso de 100 almendras	19
Prueba para el porcentaje de cáscara	19
Determinación de la humedad (ISO 2291-1972E)	20
ACIDEZ y pH	23
Método para medir el pH de la pulpa y el cotiledón	23
Materiales	23
Procedimiento	23
Métodos corrientes para medir el pH	24
Molino tipo <i>End-Runner</i>	24
Molino de cuchillo (<i>knife mill</i>)	25
Método de AOAC	26
Medición de la acidez total	27
Método tradicional	27
Un método diferente	28

Medición de la acidez total volátil	29
Materiales	29
Procedimiento	29
Cálculo	29
Normas para pH y acidez	30
MANTECA DE CACAO	31
Métodos para medir el porcentaje de manteca	31
Método del RGA Manual of Standardised Analytical Techniques	31
Oficina Internacional del Cacao (métodos AOAC)	32
Determinación del punto de fusión	35
Método de la Oficina Internacional del Cacao	35
Método de la AOAC	39
Método de Hanus (AOAC)	40
PREPARACION Y EVALUACION DEL LICOR	45
Materiales	45
Preparación del licor	45
Evaluación del licor	46
OTRAS PRUEBAS Y MUESTREOS	55
Prueba confirmatoria de la muerte del embrión (Grupo de Fermentación de Hershey)	55
Medición del índice de antocianinas	56
EVALUACION MICROBIOLOGICA	59
Cacao	59
Determinación de aflatoxinas	60
BIBLIOGRAFIA	61
ANEXO 1	63

PRESENTACION

Este Manual para el Análisis de Cacao en Laboratorio, dentro de la Serie Publicaciones Misceláneas del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), cumple con uno de los propósitos fundamentales de la Carta de Entendimiento entre la Hershey Foods Corporation y el IICA: promover la capacitación en áreas fundamentales de la producción de cacao.

Este documento es uno de los resultados de investigación en metodologías de pruebas de laboratorio, útiles para determinar aspectos de la calidad de cacao, llevada a cabo en la Hershey Foods Corporation. Su publicación fue posible gracias al apoyo de la Red Regional de Generación y Transferencia de Tecnología en Cacao (PROCACAO).

Se trata así de lograr la uniformidad en la calidad del cacao producido en los países de la región, para que esté acorde a las exigencias de la industria, permitiendo que los productores reciban precios adecuados por la venta del mismo. Responde también a una de las necesidades más urgentes por parte de técnicos, investigadores y productores, esto es la carencia de material didáctico en español sobre métodos de diagnóstico en cacao.

**Guillermo Villanueva
Coordinador PROCACAO**

INTRODUCCION

El objetivo del Manual para el Análisis de Cacao en Laboratorio es presentar las metodologías de pruebas de laboratorio útiles para determinar algunos aspectos de la calidad del cacao, y, por ende, satisfacer las necesidades de la industria y lograr que los productos reciban precios adecuados por la venta del producto.

La producción de chocolate de buena calidad requiere que el cacao, como materia prima, esté bien fermentado, libre de defectos (como hongos e insectos, entre otros) y de sabores extraños inducidos por el humo, residuos químicos y otros elementos. Para que constituyan materia prima económicamente aprovechable, las almendras de cacao deben tener un peso promedio no menor de un gramo para permitir un porcentaje bajo de cascarilla y un tostado uniforme. Por otra parte, la cantidad de manteca y su punto de fusión son importantes en el costo de la elaboración del producto final; si se tiene que agregar más manteca, el costo del proceso es menos rentable.

Se incluyen en este manual aspectos referidos al muestreo, la prueba de corte, la determinación de ciertos aspectos físicos, el pH, la manteca, la preparación de licor de cacao y la prueba de sabor.

El muestreo constituye el primer paso y reviste particular importancia, pues sólo utilizando una muestra representativa se podrán reflejar los índices verdaderos del cacao que se investiga. La prueba de corte resulta útil para clasificar defectos en el cacao comercial. Si se desea determinar adecuadamente el grado de fermentación del cacao mediante la prueba de corte, ésta debe realizarse dentro de los 30 días posteriores a la fermentación y el secado, porque cuatro o cinco meses después de éstos, el porcentaje de las almendras violetas habrá disminuido en un 50% o más.

Los datos más importantes para el cacao comercial son el peso de 100 granos ("índice de semilla"), el porcentaje de cáscara y el de humedad. Otras pruebas de los aspectos físicos pueden ser de interés

al investigador. Se recomienda determinar el pH para las pruebas rutinarias de acidez, y establecer el punto de fusión para determinar la dureza de la manteca, pues es más fácil de lograr que el índice de yodo.

También se discute en este manual la preparación de licor de cacao y su prueba de sabor, y se presentan algunos otros ensayos misceláneos.

MUESTRA DE ALMENDRAS DE CACAO

La muestra requiere una atención cuidadosa, y debe ponerse énfasis en que la enviada al laboratorio sea representativa. Los siguientes procedimientos establecidos en el *International Standard* [ISO 2292-1973(e)] se recomiendan siempre que sean posibles. También debe considerarse el uso que se dará al muestreo, sea en evaluación comercial, inspección o investigación.

○ Materiales

- Probador (*stab sampler*) para las almendras en bolsas.
- Cucharón (para tomar muestras de cacao sin utilizar bolsas).
- Bolsas para recoger muestras (deben ser suficientemente grandes para la cantidad de cacao que se va a recoger).
- Bolsas plásticas para enviar las muestras.

○ Procedimiento

1. Las muestras para inspección y análisis se pueden obtener de diversas formas:
 - 1.1 Mediante muestras al azar de cacao a granel y de los granos al entrar en la tolva, o de la parte superior, media y del fondo del cacao amontonado sobre una lona u otra superficie libre de polvo, y después de que ellos han sido mezclados. Las muestras deben sacarse con palas de una o dos libras.
 - 1.2 Para cacao a granel, deben sacarse no menos de cinco muestras de un kilogramo por cada tonelada o parte de tonelada (Cocoa Beans 1984; CCCA 1984).

- 1.3 En el caso de cacao en sacos, deben extraerse submuestras al azar de la parte superior, media y del fondo de sacos sanos, utilizando un probador comercial para atravesar los tejidos de los sacos cerrados; en el caso de los sacos abiertos, los granos se extraen por su abertura superior.
 - 1.4 Para cacao en sacos, se deben extraer submuestras de no menos de 30% de los sacos de cacao o de un saco por cada tres.
 - 1.5 También puede utilizarse el siguiente método: se mezclan todas las submuestras de un lote y se extrae una muestra representativa de dos kilogramos. Con propósitos de prueba, se procesa la muestra por el "método de cuadro": Se forma un cuadro con las almendras, éste se divide en cuatro triángulos, se eliminan dos triángulos opuestos, y se repite la operación hasta que quede una muestra de dos kilogramos (FAO 1972).
2. Para la prueba de corte se necesitan no menos de 300 almendras por cada tonelada o parte de tonelada; por cada saco o parte de un saco no se toman menos de 100 almendras.
 3. Para la prueba de sabor se necesita un kilogramo de muestra. Debe realizarse el análisis de las propiedades físicas y la acidez. La mayor parte de la muestra para esta prueba será preparada en licor de chocolate.
 - 3.1 En los experimentos se necesita una muestra de un kilogramo para todas las repeticiones de cada tratamiento.
 - 3.2 Para caracterizar el cacao de una región:
 - Se recoge una muestra de tantas fincas como sea posible en el área (una por finca); todas las muestras deben pertenecer a la misma temporada de cultivo.
 - Se mezclan todas las muestras de las fincas y se extrae una muestra representativa de esa mezcla.
 - Se debe anotar la temporada y la fecha en la etiqueta.
 - 3.3 Para caracterizar el cacao de una finca o de un beneficio:

- Se extraen submuestras de todos los sacos de cacao de un lote de menos de una tonelada, o de uno cada tres sacos en lotes de más de una tonelada (ver 1 arriba).
- Se extraen muestras de cacao a granel como se indica en 1.

4. Muestreo y preparación de almendras de cacao para la investigación (Grupo Hershey de Fermentación).

4.1 Propósito

Obtener muestras representativas de la fermentación y secado del cacao, y preparar la pulpa y los cotiledones para el análisis.

4.2 Muestreo

- **Muestras sin fermentación**
 - Recoja tres muestras separadas y páselas del recipiente de cosecha a bolsas plásticas, inmediatamente después de romper la mazorca.
 - Divida el número total de recipientes en tres grupos; saque una pequeña cantidad de almendras de cada grupo y colóquela en la bolsa apropiada. Cada recipiente es de 18.9 litros (cinco galones).
- **Muestras de fermentación**
 - Coloque una mezcla homogénea de almendras de cacao, recolectadas el día anterior, en una de las tres bolsas de malla de algodón (2" ancho x 18" largo); indique de qué parte fue tomada: superior, media o inferior.
 - Cierre las bolsas con un nudo y colóquelas en el centro de la caja de fermentación, a una profundidad adecuada.
 - Quite las bolsas al día siguiente. Use el contenido de cada bolsa para el análisis de pulpa y cotiledones.

- Realice el secado de las muestras
- Recoja las almendras de cacao de varios lugares en el secador y colóquelas en una de las bolsas plásticas. Tome muestras de estas almendras para el análisis.

4.3 Preparación de la muestra

- Muestras de pulpa
 - Coloque las almendras en bolsas de malla de algodón y exprima la pulpa para extraer el jugo; colóquelo en un recipiente. Luego determine el contenido de pH y de ácido orgánico de esas muestras.
 - Muestras de cotiledones
 - Quite cuidadosamente la testa de 43 almendras de cada una de las bolsas de muestras.
 - Haga un corte longitudinal superficial con un bisturí, y separe la testa del cotiledón.
 - Remueva 10 cotiledones para el análisis de germinación. Luego tome 11 almendras de cada una de las tres muestras, para lograr muestras compuestas de 33 almendras cada una.
 - Luego, corte longitudinalmente los cotiledones de cada muestra compuesta en cuatro partes; utilice una hoja de afeitar de un solo filo.
 - Por último coloque cada cuarto de semilla en un recipiente de ensayo separado, y hágale el análisis de pH, antocianinas, humedad y ácidos orgánicos.
5. Los instrumentos y recipientes utilizados para extraer muestras deben estar limpios y libres de contaminación. Si las muestras deben ser guardadas o enviadas a distancia, se introducen en sacos o recipientes herméticos. Se deben guardar las muestras, de manera que no sean contaminadas, en un área seca, limpia, alejada de sustancias químicas y olores extraños, y, si es posible, con una temperatura de 21 grados centígrados.

PRUEBA DE CORTE Y CARACTERISTICAS FISICAS

Prueba de corte

La prueba de corte muestra determinados defectos que causan sabores negativos, y señala el grado de fermentación que tiene efecto sobre el sabor intrínseco de la almendra (Wood y Laas 1985).

o Materiales

- Cuchillo u hoja de afeitar para las almendras.
- Una tabla dividida en 100 partes iguales sería útil para colocar las almendras cortadas (p. ejemplo 10 x 10).

o Procedimiento

1. Esta prueba debe realizarse no más de treinta días después del secado, para así evitar el efecto de la oxidación del grano, que se da cuando las almendras muestran un color marrón o café. Por esa misma razón es importante no incluir almendras afectadas por *Phytophthora* o *Monilia*.
2. Para realizar la prueba se separan 300 almendras cortadas en forma longitudinal, para así exponer al máximo la superficie del cotiledón. Luego se examina una mitad de cada almendra a la luz del día o luz artificial equivalente. El grado de fermentación se clasifica dentro de una de las siguientes categorías:

2.1 Almendras de color marrón o café.

Poseen una fermentación muy completa: los ácidos acéticos y lácticos han penetrado totalmente los cotiledones con el fin de matar el embrión y romper las vacuolas de pigmentación. Normalmente estas almendras son muy hinchadas y los cotiledones no son compactos; el grano contiene una cavidad dentro de los

cotiledones y la testa está suelta. La calidad del sabor y aroma del grano es superior y muy deseable para la producción de chocolate.

2.2 Almendras de color marrón y violeta.

Esta combinación de colores indica una fermentación parcial: los ácidos no han penetrado totalmente y una porción de las vacuolas de pigmentación está intacta. Las almendras pueden estar hinchadas con una pequeña cavidad interior, los cotiledones no son compactos y la testa está relativamente suelta. La calidad del sabor y aroma de este tipo de almendra es regular, pero aprovechable para producir chocolate.

2.3 Almendras totalmente violetas

En ellas no se ha dado una fermentación, por lo que no aparecen los efectos de los ácidos procedentes de la pulpa. Las almendras no están hinchadas y la apariencia interna es compacta. Debido a que hace falta el efecto celular y químico en los cotiledones, no es posible aprovechar el grano para la producción de chocolate. El sabor es muy astringente y amargo, con ausencia de aroma. La calidad no es aceptable para la industria chocolatera, de modo que estos granos sólo son útiles para extraer manteca y posibles colorantes.

2.4 Almendras pizarrosas (de color pizarra o gris)

Este color indica que no habrá ningún efecto de fermentación y que las almendras son muy compactas. El color pizarra (gris) representa un defecto muy serio para cualquier procesador de cacao.

2.5 Almendras mohosas

La presencia de hongos dentro de los cotiledones de cacao destruye totalmente el sabor del grano. Aunque los organismos presentan varios colores (blanco, amarillo, gris y otros), causan el mismo efecto sobre los sabores de chocolate y la manteca. Las condiciones que promueven hongos incluyen germinación, quiebre o corte de granos, entrada de insectos, secado no ade-

cuado (debe llegar a menos del 8% de humedad) y almacenamiento en humedad relativa superior al 85 por ciento.

2.6 Almendras infestadas

Son todas aquéllas con señales de insectos dentro de la testa.

2.7 Almendras germinadas

Estas provienen de mazorcas posiblemente sobremaduras y constituyen un defecto serio. Durante el almacenamiento, hongos e insectos aprovechan el hoyo en la semilla para penetrar dentro de ellas.

2.8 Almendras aplanadas

Son inútiles para la producción de chocolate, ya que el grano casi no contiene cotiledones y mucho de su peso es cascarilla. El origen aplanado se debe a la cosecha de mazorcas no maduras (verdes) y además, o en su defecto, a una fermentación insuficiente.

3. Cada almendra debe clasificarse en una sola categoría. Cuando hay más de un defecto, se clasifica dentro de la categoría que corresponda a la característica sobresaliente. El orden decreciente de defectos es el siguiente: a) mohosa, b) pizarrosa y c) aplanada, infestada y germinada (estas almendras se clasifican dentro de una misma categoría).
4. Los resultados de cada defecto o grado de fermentación deben expresarse en porcentajes.

○ Interpretación de la prueba de corte

1. La función de la prueba de corte es disminuir el riesgo de que el comprador acepte cacao con graves defectos económicos y, en menor grado, de sabor. La excesiva dependencia de este método como instrumento para juzgar el grado de fermentación ha generado problemas.
2. Debe recordarse que la prueba de corte tiene muy baja precisión por las siguientes razones:

- 2.1 Es una medida subjetiva que involucra la evaluación visual de los cambios de color.
 - 2.2 La oxidación de los tejidos del grano hace que los colores internos cambien naturalmente; se puede obtener un color marrón, aunque el sabor o aroma del chocolate no sea de gran calidad.
 - 2.3 La infección de las semillas con *Phytophthora* o *Monilia* puede resultar en un color marrón o café, difícil de distinguir del de las almendras fermentadas.
3. Una fermentación normal presenta aproximadamente los siguientes resultados:
- | | | |
|---|---|------|
| • Almendras pizarrosas | = | 0-2% |
| • Almendras parcial o totalmente violetas | = | 35% |
| • Almendras marrones | = | 65% |
- 3.1 Si el porcentaje de almendras pizarrosas y violetas es más que el mencionado en el punto 3. arriba, el cacao tiene baja fermentación.
 - 3.2 Si hay más del 65% de almendras marrones existe un alto riesgo de sobrefermentación, la cual constituye un defecto.
 - 3.3 Si se da un 90% o más de almendras marrones, hay sobrefermentación.
4. Para clasificar el cacao comercial se emplea, en la mayoría de los casos, el sistema de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) o Modelo de Ordenanza, el cual presenta los siguientes grados estándar:
- 4.1 Grado I
 - Almendras mohosas, máximo 3% por conteo.
 - Almendras pizarrosas, máximo 3% por conteo.
 - Almendras dañadas, germinadas o aplanadas, máximo 3% por conteo.

4.2 Grado II

- Almendras mohosas, máximo 4% por conteo.
- Almendras pizarrosas, máximo 8% por conteo.
- Almendras dañadas, germinadas o aplanadas, máximo 6% por conteo.

Cuadro 1. Clasificación de cacao en Costa Rica.

Parámetros	Extra	I	II	III
Humedad (%) (máx.)	7.5	7.5	7.5	8.0-9.0
Peso promedio por grano (g)	1.2	1.2	1.1	1.0
Fermentado (%) (mín.)	80	60	35	20
Grano violeta (%) (máx.)	15	20	25	40
Grano pizarroso (%) (máx.)	5	15	20	25
Grano germinado (%) (máx.)	0	2	3	3
Grano plano (%) (máx.)	1	1	2	3
Materia extraña (%) (máx.)	0	0	0	1
Grano mohoso (%) (máx.)	0	2	3	4(*)
Grano infestado (%) (máx.)	0	2	3	3(*)

Nota: La suma de los marcados con (*) nunca puede ser superior al seis por ciento. Todo el cacao que no alcance el grado II se considerará inferior al estándar.

Cuadro 2. Evaluación de almendras de cacao. Prueba de corte.

Color	Causa
Pizarrosas	No fermentada
Violeta, textura compacta	Baja fermentación
Violeta, textura abierta	Fermentación buena a ligeramente baja
Violeta parduzca a marrón	Buena fermentación
Marrón oscuro	Sobrefermentada

Cuadro 3. Ejemplo de la prueba de corte en cacao comercial de diversas fuentes.

Tipo	Mohoso (%)	Pizarroso (%)	Infestado (%)
Costa Rica	1.0	0.0	0.0
Ghana	2.0	3.08	1.0
Lagos (Nigeria)	0.0	2.0	0.0
Costa de Marfil	1.0	3.0	0.0
Camerún	3.0	10.0	1.0
Fernando Poo (Guinea Ecuatorial)	2.0	0.0	0.0
Lomé (Togo)	2.0	3.0	0.0
Sierra Leona	1.0	5.0	0.0
Bahía (Brasil)	2.0	0.0	0.0
Arriba (Ecuador)	1.0	7.0	1.0
Sánchez (República Dominicana)	3.0	15.0	1.0
Trinidad y Tobago	0.0	0.0	0.0
Tabasco (México)	1.0	14.0	2.0
Jamaica	3.0	0.0	0.0
Panamá	1.0	0.0	2.0
Granada	2.0	0.0	0.0
Nueva Guinea	1.0	0.0	0.0
Samoa	1.0	0.0	0.0

Características físicas

Prueba para el peso de 100 almendras (400 almendras)

○ Materiales

- Romana analítica.

○ Procedimiento

1. Se seleccionan 100 almendras al azar con cáscara y sin tostar. No deben incluirse almendras dobles, aplanadas o sin cáscara. Se prepara un total de cuatro series de 100 almendras cada una.
2. Se pesa y se anota el peso neto de cada serie.
3. Se suman los cuatro pesos y se calcula el promedio dividiendo entre cuatro.

Prueba para el porcentaje de cáscara (150 almendras)

○ Materiales

- Romana analítica.
- Bisturí, cuchillo u hoja de afeitar para descascarar las almendras.

○ Procedimiento

1. Se seleccionan al azar 50 almendras con cáscara y sin tostar.
2. Se descascara cada almendra con cuidado; se colocan las cáscaras en una taza previamente pesada y los gránulos o *nibs* en otra.
3. Se pesan por separado las cáscaras y *nibs* y se anotan sus pesos.
4. Se repite este proceso dos veces, escogiendo al azar 50 almendras para cada serie.

5. Se suman las columnas de los pesos de la cáscara y de los *nibs*. Se calculan los promedios.
6. Se determina el porcentaje de cáscara, mediante una de las siguientes opciones:
 - 6.1 $\text{Porcentaje} = \text{peso de cáscara} + (\text{peso de cáscara} + \text{nibs}) \times 100.$
 - 6.2 $\text{Total porcentaje} = \text{peso de cáscara total} + (\text{peso total de cáscara} + \text{peso total de nibs}) \times 100.$
 - 6.3 $\text{Porcentaje promedio} = \text{peso promedio de cáscara} + (\text{promedio del peso de cáscaras} + \text{promedio del peso de nibs}) \times 100.$

Cuadro 4. Relación entre peso del grano y contenido de cáscara.

Peso del grano (g)	Cáscara (%)
0.5 - 0.7	13.8
0.8 - 0.9	13.1
0.9 - 1.0	12.0
1.0 - 1.1	11.7
1.1 - 1.2	10.8
1.2 - 1.3	11.1
1.3 - 1.4	10.9
1.4 - 1.5	10.0

Fuente: Rohan s.f.

Determinación de la humedad (ISO 2291-1972E)

○ **Materiales**

- Majador y mortero.
- Horno con ventilación, adaptado preferiblemente con un abanico, con capacidad de mantener la temperatura a $130^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

- Plato con tapa, de metal resistente a la corrosión en condiciones del ensayo, o de vidrio, con no menos de 35 cm² de superficie efectiva (para un diámetro mínimo de 70 mm) y 20 a 25 mm de profundidad.
- Deshidratador, con un material efectivo para ese fin (gel de sílice).
- Balanza analítica.

○ Procedimiento

1. Preparación de la muestra

Se mezcla cuidadosamente la muestra de laboratorio. Por reducciones sucesivas de la mezcla, se toman cerca de 10 g de granos de cacao (10-15 almendras). Se machacan con fuerza en el mortero durante un minuto; se debe hacer de manera que las partículas no sobrepasen los 5 mm, para evitar la formación de una pasta. Es aconsejable machacar individualmente cada grano, colocándolos uno por uno en el mortero. El grano elegido será representativo de la muestra del laboratorio.

2. Porción de ensayo

Se destara el plato vacío con su tapa, previamente secado; se coloca rápidamente la mayor parte de la porción de ensayo que se preparó en el paso anterior. Se cubre el plato con su tapa y se pesa con una aproximación de 0.0002 gramos.

3. Determinación

Se coloca el plato con la porción de ensayo en el horno a 130°C, abierto, sobre su tapa. Se deja allí cerca de 16 h ± 1 h, sin abrir el horno. Al final de ese lapso, se quita el plato y se cubre enseguida con su tapa y se coloca en el deshidratador. Después de enfriarlo a temperatura ambiente (aguardar aproximadamente 30 a 40 min), se pesa, todavía cubierto, con una aproximación de 0.0002 gramos.

Se deben realizar dos determinaciones, cada una con una cantidad de almendras tratadas individualmente: se las machaca tomando porciones de la prueba y se las seca.

4. Fórmula y método de cálculo.

- 4.1 El contenido húmedo de la muestra expresado como porcentaje, por masa, es igual a $(m_1 - m_2) \times 100 / m_1 - m_0$;

m_0 es la masa, en gramos, del plato vacío y su tapa; m_1 es la masa, en gramos, del plato y su tapa y la porción de ensayo antes de secarse en el horno;

m_2 es la masa, en gramos, del plato y su tapa y la porción de ensayo después de secar en el horno.

- 4.2 Si se cumple el requerimiento de repetición, se toma como resultado el promedio aritmético de las dos determinaciones. Si no, se repiten las determinaciones. Se deben llevar los resultados al lugar de un decimal.

5. Resultados de las repeticiones

Las diferencias entre los resultados de las dos determinaciones hechas simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, no deben sobrepasar 0.3 g de pérdida en masa por 100 g de muestra.

ACIDEZ y pH

Método para medir el pH de la pulpa y el cotiledón

El propósito de este método es medir los cambios en la pulpa y en el cotiledón de almendras de cacao durante los procesos de fermentación y secado; también sirve para medir el pH en almendras secas.

○ Materiales

- Muestras de granos de cacao exprimidos en sacos de malla de algodón.
- Sacos de malla de algodón.
- Treinta y tres cuartos de cotiledones de una muestra compuesta.
- Botellas de 100 ml (estilo *French Square Bottle*).
- Mezclador (p. ej. Tekmar), con una sonda de 18 centímetros.
- Un medidor de pH que pueda leer la unidad de pH 0.1.
- Dos topes (*buffers*) de pH 4 y 7.
- Reloj con segundero.
- Romana analítica.

○ Procedimiento

1. Se exprime la pulpa de las almendras de cacao con sacos de malla de algodón y se coloca en una vasija de pesar.

2. Se mide directamente el pH de la pulpa en la superficie plana del electrodo, que se uniformó entre pH 4 y 7.
3. Se pesan 33 cuartos de granos de cacao sin cáscara y se colocan en una botella de 100 ml (estilo *French Square Bottle*).
4. Se añade agua destilada a los granos en una cantidad equivalente a dos veces el peso de los granos (relación 1:2).
5. Se homogeneiza los cuartos de los granos de cacao con el mezclador (p. ej. *Tekmar*, 60 s a 65% de potencia).
6. Se mide el pH del compuesto homogéneo en la superficie plana del electrodo que se uniformó entre pH 4 y 7.

o Notas

1. Es típico que el pH de la pulpa sea de alrededor de 3.5 en granos frescos de cacao, y que llegue hasta más de 4, al final de la fermentación. El pH del cotiledón comienza con 6.5 y disminuye a 4.5 después de la fermentación y antes del secado (ver sección 3.5).
2. Adviértase que los métodos estándar de pH utilizan almendras tostadas que se usan para hacer licor de chocolate. Para la preparación de éste, ver el capítulo Preparación y Evaluación del Licor.
3. En primer lugar se quita la cáscara de las almendras.

Métodos corrientes para medir el pH

Molino tipo End-Runner

- **Materiales**

- Un molino tipo *End-Runner*.
- Agua destilada.
- Filtro.

- Una hornilla para calentar el agua destilada.
- Varilla de vidrio para remover.
- Espátula.
- Cubeta de 150 mililitros.
- Medidor de pH.
- Topes.
- Romana analítica.

○ Procedimiento

1. Se trituran los gránulos o *nibs* de 50 granos de cacao tostados por una hora en un molino tipo *End-Runner* hasta que se presente un licor fino. Durante este proceso se debe raspar de vez en cuando el majador y los lados del mortero; las sobras se agregan a la masa del licor.
2. Se trasladan 10 g del licor fino a una cubeta (*beaker*) de 150 mililitros. Se mezclan, con una vara de vidrio, con 100 ml de agua destilada hirviendo. Se refresca a una temperatura de 20°C a 22°C, se filtra y se determina el pH.

Molino de cuchillo (*knife mill*)

○ Materiales

- Los mismos usados en la sección anterior, pero en lugar del molino tipo *End-Runner*, se usa uno de cuchillo (*knife mill*).

○ Procedimiento

1. Se trituran 20 *nibs* de cacao tostados durante 20 segundos en el *knife mill*. Después de 20 segundos se detiene el proceso, se quita la sobra

de los lados del mortero con una espátula y en seguida se continúa el proceso por 10 s más.

2. Se pasan 10 g del licor fino a una cubeta (*beaker*) de 150 mililitros. Se mezclan, con una vara de vidrio, con 100 ml de agua destilada hirviendo. Se refresca a una temperatura de 20°C a 22°C; se filtra y se determina el pH.

Método de AOAC

Este método se inicia con el licor de la almendra.

o Materiales

Los materiales son los mismos utilizados en el método con molino tipo *End-runner*, pero en vez de agua destilada se usa agua desionizada.

o Procedimiento

1. Se pasan 10 g de muestra de licor de cacao tostado a una cubeta (*beaker*) de 150 mililitros.
2. Se añaden despacio, mientras se agitan, 90 ml de agua desionizada hirviendo. La suspensión debe estar libre de sustancias sólidas.
3. La solución se filtra, se refresca a una temperatura de 20°C a 25°C, y se determina su pH. Se reportan los resultados más cercanos a 0.1 pH.

o Notas

1. Se debe normalizar el contador de pH con topes (*buffers*) de 4 y 7 a 22°C, o utilizar un contador que compense la temperatura del ambiente.
2. Se debe lavar el electrodo con agua desionizada, y guardarlo en el mismo tipo de agua con el contador apagado.

Medición de la acidez total

Método tradicional

o Materiales

- Hoja de afeitar para descascarar las almendras.
- Un molino para triturar los gránulos.
- Una romana.
- Un cilindro graduado de 100 mililitros.
- Medidor de pH, con compensación de temperatura.
- Aparato para titulación.
- Baño de agua.

o Procedimiento

1. Se trituran los *nibs* —descascarados, tostados, crudos—, como en cualquiera de los métodos ya explicados.
2. Se pesan 10 g exactos de cacao triturado, y se les añade 90 ml de agua destilada hirviendo. Se mezcla bien el total de la porción correspondiente al ensayo.
3. Se refresca rápidamente la suspensión a 20°C en baño de María o mediante un contador de pH compensado para la temperatura del ambiente.

o Determinación de la acidez

1. Se valora la suspensión hasta pH 7 con aproximadamente 0.1 N NaOH en solución (grado de reactivo analítico), que se añade a la muestra mientras se agita. El proceso de neutralización de la acidez es lento; por tanto, la valoración no puede terminar hasta que el contador de pH se normalice a pH 7 en 30 segundos.

2. Se deben dar los resultados con un decimal en miliequivalentes (mEq) por 100 g de materia seca.

Un método diferente

○ Materiales

- Molino de cuchillo (*knife mill*).
- Cubeta o *beaker* de 100 mililitros.
- Alcohol etílico (grado reactivo analítico).
- Aproximadamente 0.1 N NaOH.

○ Procedimiento

1. Se trituran 100 granos íntegros en el molino.
2. Se mojan 2.5 g del material triturado en el alcohol etílico en una cubeta de 100 ml durante cuatro horas, mezclando en forma intermitente.
3. Se tritura la mezcla con NaOH para pH 8.5, utilizando el contador de pH.

○ Cálculo de la acidez total

La acidez total manifestada como ácido acético/100 almendras

$$= \frac{\text{Valoración (ml)} \times \text{normalidad} \times 1000}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

Medición de la acidez total volátil

○ Materiales

- Molino tipo *knife mill*.
- Generador de vapor (capacidad de dos litros).
- Frasco de dos litros, de fondo redondo, equipado con tapón a prueba de salpicaduras y tubo de admisión. Un condensador adecuado para permitir la recolección del material destilado.
- Aproximadamente 0.1 N NaOH.
- Solución indicadora fenolftaleína.

○ Procedimiento

1. Se trituran 100 granos íntegros hasta lograr un polvo fino en el molino *knife mill*, evitando moler excesivamente para no formar pasta. Se pesan 20 g del polvo, a una exactitud de 0.1 g, en un frasco de fondo redondo.
2. Se agregan 200 ml de agua destilada al frasco. La muestra se destila a vapor, y el destilado se recolecta en un frasco volumétrico de un litro.
3. Se continúa la destilación hasta que se recolecte en el frasco poco menos de un litro.
4. Se retira el frasco, se enfría y se completa el volumen hasta un litro.
5. Se valoran 100 ml del destilado con hidróxido de sodio, utilizando el indicador de *phenolphalein* hasta que aparezca el color rosado.

○ Cálculo

La acidez volátil manifestada en miligramos de ácido acético/100 g de almendras.

$$= \frac{\text{Valoración (ml)} \times \text{normalidad} \times 60\,000}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

Normas para pH y acidez

Se considera en general que los granos de cacao seco con pH más alto que 5.2 y acidez más baja que 12 mEq de NaOH por 100 g de peso seco son de buena calidad. El cacao con pH menor de 5 y una acidez mayor de 15 mEq es considerado demasiado alto.

En este capítulo se ha utilizado, en varias ocasiones, la expresión: "Aproximadamente 0.1 N NaOH". Es casi imposible hacer una solución de 0.1 N NaOH, pero es posible definir la normalidad de cualquier solución:

- Valorar con 0.1 N HC 1 para neutralizar 10 ml de la NaOH en solución. Usar el volumen (ml) de HC1 para calcular la normalidad.
- Miliequivalentes de base = ml de HC1 usado normalidad (0.1 N).
- Miliequivalentes de base = miliequivalentes de ácido.
- 10 ml de NaOH x normalidad = miliequivalentes de ácido.
- Solución para lograr la normalidad:
$$N = \text{miliequivalentes de ácido} / \text{miliequivalentes de NaOH}.$$

MANTECA DE CACAO

Métodos para medir el porcentaje de manteca

RGA Manual of Standardised Analytical Techniques

○ Materiales

- Aparato de extracción *Soxhlet* equipado con:
 - Un condensador que se ajusta al tubo de extracción.
 - Un frasco de fondo redondo que es destarado.
 - Una unidad calentadora.
- Molino tipo *End-Runner*.
- Molde adecuado.
- Eter de petróleo (ordinario) (60°C - 80°C) ó 2-hexano comercial (56°C - 70°C).

○ Procedimiento

1. Se trituran los gránulos (*nibs*) de 50 almendras de cacao durante una hora en un molino tipo *End-Runner* hasta lograr un licor fino. Durante el proceso de molienda se quita el licor raspando de vez en cuando los lados del majador y del mortero; las raspaduras se añaden al volumen del licor. Después de la molienda, se debe transferir el licor al molde y dejar que se endurezca.

2. Cuando se enfría, se debe quebrar el bloque del licor verticalmente en dos partes y raspar la superficie quebrada de arriba hacia abajo, logrando suficiente material (por lo menos de dos a tres gramos) para determinar el contenido de la manteca de cacao mediante el aparato de extracción *Soxhlet*.
3. Se pesan y envuelven dos a tres gramos de raspadura en papel de filtro (*Whatman* núm. 42 o equivalente) y se transfieren a un dedal adecuado de un solo espesor.
4. Se coloca en un *Soxhlet* y se extrae con solvente durante 24 horas.
5. Se destila el solvente en un baño de vapor.
6. Se seca el frasco que contiene la manteca extraída en un horno, durante dos horas a $103 \pm 2^\circ\text{C}$.
7. Luego se enfría dentro de un deshidratador y se pesa.
8. Se calcula la manteca de cacao, basándose en el porcentaje de *nibs* secos:

$$\text{Manteca de cacao} = 100 (W2 - W1)/W \times 100/(100 - Ma),$$

donde,

W1 = peso del frasco de extracción (g).

W2 = peso del frasco con manteca seca (g).

W = peso de la raspadura (g).

Ma = humedad de la raspadura (%).

Oficina Internacional del Cacao (métodos AOAC)

o Materiales

- Los mismos usados en el método del RGA *Manual of Standardised Analytical Techniques*.

o Procedimientos

1. Se pasan tres a cuatro gramos de licor de chocolate en una cubeta de 300 a 500 mililitros. Se agregan lentamente 45 ml de agua hirviendo, mientras se agita el licor para obtener una suspensión homogénea.
2. Se agregan 55 ml 8 N NC1 (2 + 1) y unos pedacitos de SiC sin grasa u otros agentes antigolpeadores, y se mezclan.
3. Se cubre con un cristal de reloj y se hierve lentamente durante 15 minutos.
4. Se aclara el cristal de reloj con 100 ml de agua.
5. Se filtra el digesto a través de 15 cm de papel S&S 589 medio o equivalente, aclarando la cubeta tres veces con agua.
6. Se continúa lavando hasta que la última porción del material filtrado esté libre de Cl, que se detecta por gotas de 0.1 N AgNO₃.
7. Se transfiere el papel mojado y la muestra al dedal de extracto sin grasa, y se seca durante 6 a 18 horas dentro de una cubeta pequeña a una temperatura de 100 grados centígrados.
8. Se coloca un tapón de lana de vidrio sobre el papel.
9. Se agregan unos pedacitos antigolpeadores libres de grasas a un *Erlenmeyer* de 250 ml y se secan por una hora a una temperatura de 100 grados centígrados.
10. Se enfría a temperatura ambiente en deshidratador y se pesa.
11. Se coloca el dedal con la muestra seca en el *Soxhlet*, apoyándolo con una espiral o abalorios de vidrio.
12. Se aclara la cubeta de digestión y se seca; se procede del mismo modo con los cristales de reloj con tres porciones de 50 ml de éter de petróleo y se lava el dedal.

13. Se refluye la muestra digestada por cuatro horas; se ajusta el calor de tal manera que el extractor pueda sacarlo con un sifón mayor que o igual a 30 veces.
14. Se seca el frasco a una temperatura de 100°C a 101°C a un peso uniforme durante un período de una hora y media a dos horas.
15. Se enfría en un deshidratador hasta alcanzar la temperatura ambiente y se pesa.
16. Se logra un peso constante cuando, en períodos consecutivos de secado de una hora cada uno, demuestran una pérdida de menos del 0.05% de grasa.
17. Se calcula la manteca, basándose en:
 - Porcentaje de manteca = $\frac{\text{g manteca}}{\text{g muestra}} \times 100$.
 - Variación en cacao de 53% - 61%.
 - Relación entre peso (g) y manteca de cacao (%).

Cuadro 5. Manteca de cacao: Comparación de almendras grandes y pequeñas.

Peso medio de almendras		Manteca de <i>nibs</i> (%)	
Grandes	Pequeñas	Grandes	Pequeños
1.35	0.80	54.7	53.0
1.15	0.47	53.6	46.5
1.20	0.56	53.3	48.3
1.30	0.65	57.2	51.1
1.20	0.75	58.7	53.2
1.10	0.72	52.3	50.5
1.35	0.65	52.2	50.9
1.40	0.85	52.3	49.2

Fuente: Rohan s.f.

Determinación del punto de fusión

Método de la Oficina Internacional del Cacao

○ Materiales

- Licuadora o un molino *Krupps*.
- Botellas para centrifugar de 250 ml, con tapones.
- Centrifugadoras.
- Eter de petróleo.
- Frascos *Erlenmeyer* de 250 ml y astillas de ebullición.
- Baño de vapor.
- Aparato para filtrar, con guata de algodón o filtro estriado.
- Dos baños de agua.
- Moldes para la manteca de cacao.
- Termómetro de precisión (escala de 0.1°C ó 0.2°C).
- Tubos capilares, diámetro interior de un milímetro.
- Cubeta de 600 mililitros.
- Lupa.

○ Procedimiento

1. Extracción de manteca de los granos de cacao

- 1.1 Se trituran cerca de 50 g de almendras de cacao en un polvo fino con un molino de laboratorio (como *Krupps mill*). Se transfiere el polvo a una botella de fuerza centrífuga con capacidad para 250 mililitros.

- 1.2 Se añaden 100 ml de éter de petróleo, se tapa y se sacude por un minuto con ventilación.
- 1.3 Se centrifuga la solución a cerca de 2000 rpm por lo menos durante diez minutos.
- 1.4 Se decanta en un frasco *Erlenmeyer*, que contiene perlas de ebullición, y se evapora sobre un baño de vapor.
- 1.5 Se deja que la manteca quede en un sitio fresco (a una temperatura ambiente) cerca de 24 horas antes de utilizar.
- 1.6 Se utiliza la manteca que queda en el frasco para determinar el punto de fusión; se deben tomar precauciones para incluir las astillas de ebullición.

2. Pretratamiento de la manteca de cacao

- 2.1 Se funde la manteca de cacao a una temperatura de 50°C a 60°C; cuando está caliente, se filtra por una guata de algodón o un filtro estriado.
- 2.2 Se ponen cerca de 50 g de manteca de cacao filtrada; se limpian en una cubeta y ésta se sumerge en un baño de 25 grados centígrados.
- 2.3 Se enfría la manteca líquida mientras se la agita continuamente hasta que tome una consistencia pastosa. El tiempo necesario puede ser diferente de una muestra a otra. Deben evitarse las burbujas de aire durante esa tarea. En ningún caso se deben añadir cristales de manteca de cacao.
- 2.4 Se coloca la cubeta con la manteca en otro baño de 32°C a 33°C; se continúa agitando hasta que la muestra llegue a esa misma temperatura y se convierta en una crema líquida en un plazo de 30 minutos.
- 2.5 Se pone la manteca de cacao cuando aún es líquida y tiene el aspecto de leche y crema, en moldes con una temperatura de 21°C a 22°C; se deja solidificar por lo menos dos horas a la temperatura ambiente (20°C a 22°C).

- 2.6 Se saca la manteca de cacao del molde y se determina el punto de fusión por el método de *Fincke*.
- 2.7 Se efectúa la determinación, de tal manera que el incremento en temperatura de 20°C a 30°C no pase de 1°C por minuto y, por encima de 30°C, sólo 0.2°C por minuto.
3. Determinación de los puntos de fusión mediante el método *Fincke*
- 3.1 Se empuja el lado más largo del tubo-U, utilizado para la determinación de los puntos de fusión (Fig. 1), hacia la manteca solidificada que fue tratada como se expuso anteriormente. Se toma un centímetro de columna de manteca, que debe ser empujado hacia dentro hasta un centímetro antes de la curva del tubo con una varita fina de metal.

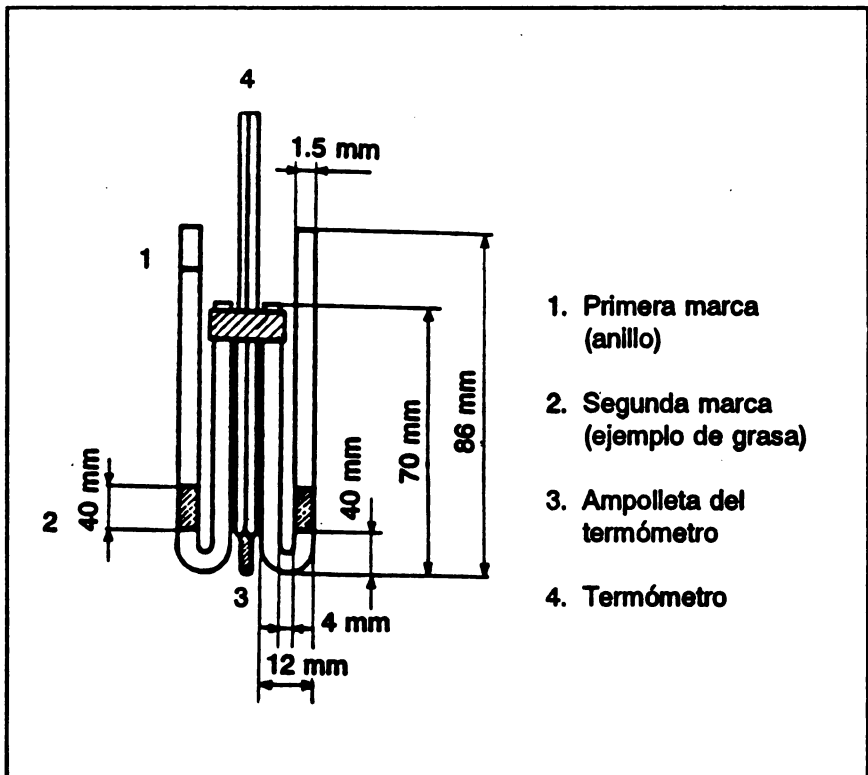


Fig. 1. Tubo-U para determinar el punto de fusión, de acuerdo con *Fincke*.

- 3.2 Los lados más cortos de dos tubos-U con muestras de manteca deben ser ligados a un termómetro de precisión (escala en $1/10^{\circ}\text{C}$) por medio de un pedazo de tubería de goma de un centímetro de largo. Los codos de los tubos deben estar al mismo nivel de la ampolla del termómetro.
- 3.3 Se inserta el termómetro con las muestras en los dos tubos-U dentro del baño María, hasta la parte inferior de la tubería de goma. El nivel del baño interior debe situarse a un centímetro bajo el nivel del baño exterior (Fig. 2).

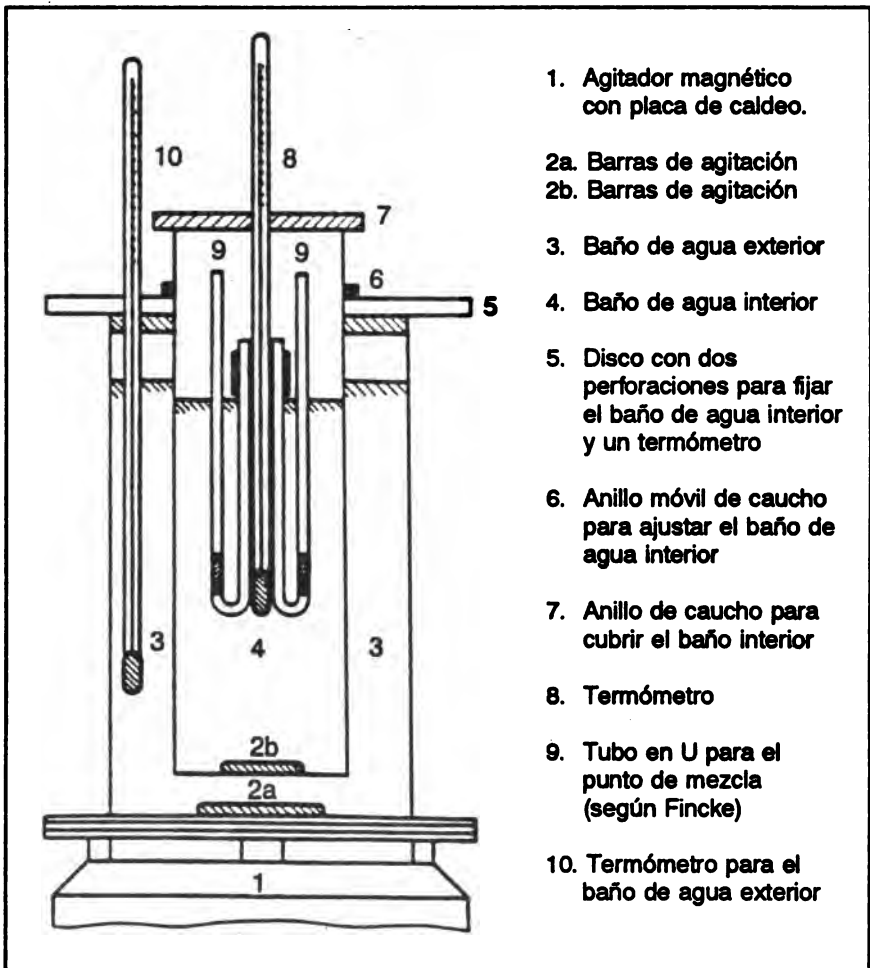


Fig. 2. Equipo para determinar los puntos de fusión, de acuerdo con Fincke.

- 3.4 Se calienta lentamente el baño exterior, agitando de manera continua. Debe cuidarse que el incremento en la temperatura no sobrepase 1°C por minuto hasta 4°C bajo el punto probable de deslizamiento de la muestra por ser analizada. Se debe reducir la calificación de la temperatura, de tal modo que la temperatura del baño inferior aumente como máximo 0.2°C por minuto.
- 3.5 El punto de deslizamiento es la temperatura a la cual la columna de manteca fluye hacia la curva del tubo.
- 3.6 La temperatura del punto claro se alcanza cuando en la parte de la curva del tubo, la manteca líquida es clara, vista con lente de aumento.

Método de la AOAC

○ Procedimiento

1. Se sacan cerca de 10 ml de manteca fundida y filtrada en tubos capilares con lados delgados y 1 ml de diámetro.
2. Se cierra un extremo del tubo que contiene la muestra de manteca en una llama pequeña, sin quemar.
3. Se guardan los tubos con las muestras de manteca de cacao por lo menos 16 h en refrigerador, a una temperatura de 4°C a 10°C.
4. Se conecta el tubo con la muestra a un termómetro graduado a 0.2°C, de tal manera que el extremo bajo esté al mismo nivel que el fondo de la ampollita de mercurio.
5. Se suspende en una cubeta de 600 ml con agua por la mitad, de tal forma que el termómetro quede sumergido cerca de 30 milímetros.
6. Se aplica calor empezando por 8°C a 10°C bajo el punto de fusión, y se incrementa la temperatura del baño aproximadamente 0.5% por minuto, agitando lentamente el agua mediante una pequeña corriente de aire.

7. Se anota la temperatura del punto de fusión: aquella en que la manteca de cacao se pone transparente, vista con lente de aumento.
8. Se apunta el promedio de tres valores, los cuales deben coincidir en 0.5 grados centígrados.

Cuadro 6. Comparación de cacao de diferentes fuentes.

Fuente	Manteca (%)	Valor yodo (I)
Ghana	56.9	36.8
Lagos (Nigeria)	57.3	37.1
Costa de Marfil	58.2	35.0
Camerún	56.3	38.4
Fernando Po (Guinea Ecuatorial)	57.6	33.5
Lomé (Togo)	57.5	37.2
Sierra Leona	57.9	36.4
Bahía (Brasil)	56.5	41.2
Arriba (Ecuador)	53.4	34.3
Sánchez (República Dominicana)	52.0	36.2
Costa Rica	59.6	35.3
Trinidad y Tobago	56.7	35.3
Tabasco (México)	53.2	35.1
Jamaica	59.7	36.5
Panamá	58.8	36.1
Granada	56.7	34.6
Nueva Guinea	56.9	35.1
Samoa	55.6	34.8

Método de Hanus (AOAC). Determinación de la cantidad de yodo en la absorción de aceites y grasas

○ **Materiales**

- Reactivo (véase a continuación).

- Pipetas graduadas de varios tamaños.
- Frascos o botellas de vidrio de 500 ml, con tapones.
- Aparatos para titulación.

o Procedimiento

1. Preparación del reactivo

1.1 Primer método

- Se disuelven 13.2 g de yodo (I) puro en un litro de ácido acético que no demuestre reducción con dicromato de potasio y H₂SO₄ (grado reactivo).
- Se añade una cantidad equivalente de bario para doblar el contenido de halógenos por valorar (más o menos tres mililitros). Puede disolverse el yodo por calentamiento, pero la solución debe estar fría al añadir el bario.

1.2 Segundo método.

- Se disuelven 13.615 g de yodo en 825 ml de ácido acético con ayuda de calor.
- Se refresca y valora con 25 ml de 0.1 N Na₂S₂O₃ (grado reactivo).
- Se calcula el volumen de solución de bario, necesario para doblar el contenido de halógenos que queda en la solución sobrante de 800 ml de yodo, del siguiente modo:

$X = B/C$, donde x = ml de solución de bario requerido.

$B = 800 \times$ tiosulfato equivalente de un mililitro de solución de yodo.

$C =$ biosulfato equivalente de un mililitro de solución de bario.

Si es necesario, se puede reducir la solución mezclada a una concentración propia diluida en ácido acético.

2. Determinación

- 2.1 Se pesa 0.5 g de manteca de cacao y se coloca en un frasco o botella de 500 ml, con tapón de vidrio.
- 2.2 Se disuelven en él, 10 ml CHCl_3 (grado reactivo).
- 2.3 Se agregan con pipeta 25 ml de solución de yodo Hanus; se desagua la pipeta dentro de un tiempo determinado, y se dejan en la oscuridad por 30 min, sacudiendo de vez en cuando. Para lograr resultados precisos debe utilizarse el tiempo exacto. El exceso de yodo debe ser menos del 60% de la cantidad agregada.
- 2.4 Se agregan 10 ml de solución de 15% KI sacudiendo por completo.
- 2.5 Se añaden 100 ml de agua recién hervida y enfriada. Debe lavarse cualquier residuo de yodo libre en el tapón.
- 2.6 Se valora con el yodo con 0.1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (tipo); se añade de manera gradual y se sacude constantemente hasta que la solución amarilla cambie a una solución casi incolora.
- 2.7 Se añaden unas gotas de indicador de almidón, y se continúa la valoración hasta que el azul desaparezca por completo.
- 2.8 Hacia el final de la valoración, se debe taponar la botella y sacudirla con fuerza.
- 2.9 Se continúa la valoración a fin de que cualquier residuo de yodo que quede en solución en CHCl_3 sea absorbido por la solución de KI.

3. Cálculo

Se deben hacer dos determinaciones en blanco a lo largo con determinación de la muestra.

- 3.1 El número de mililitros de 0.1 N Na₂S₂O₃ exigido por el blanco menos los mililitros gastados en determinación (S) da el Na₂S₂O₃ equivalente del yodo absorbido por la manteca de cacao.
- 3.2 El porcentaje por peso de yodo absorbido (I número, método de Hanus):

I número = [(B-S) x N x 12.69] / g muestra,

donde N es la normalidad de la solución de Na₂S₂O₃.

PREPARACION Y EVALUACION DEL LICOR

En esta sección se estudiará la preparación y evaluación del licor de chocolate.

o Materiales

- Canasta de alambre u otro recipiente que permita la circulación uniforme del aire.**
- Horno con calor circulante.**
- Hojas de afeitar o bisturí para descascarar las almendras.**
- Molino (como el molino centrífugo Utra).**
- Rodillo refinador (si se necesitan partículas más pequeñas).**
- Recipientes de metal o de vidrio para almacenamiento.**
- Horno para derretir el líquido.**

Preparación del licor

1. Tostado de las almendras

- 1.1 Se colocan las almendras crudas, sin desgranar, en una canasta de alambre con una profundidad de des almendras. Si no hay canastas de alambre, se puede utilizar otro recipiente, siempre que permita la circulación uniforme del calor.**

- 1.2 Se tostan las almendras en un horno caliente en que el aire circule a 400°F (204°C), durante aproximadamente diez minutos.
- 1.3 Se deja que las almendras se enfríen levemente; luego se quitan las cáscaras.

2. Procedimiento

- 2.1 Se refinan las almendras de cacao que han sido tostadas y descascaradas.
- 2.2 Se trituran las almendras tostadas y descascaradas en un molino centrífugo Utra u otro tipo.
- 2.3 Si se desea lograr un tamaño de trituración más pequeño de acuerdo con el producto final en consideración, se pasan los gránulos molidos por un refinador de rodillo.
- 2.4 Cuando se obtenga el tamaño deseado de la partícula, se coloca el licor en un recipiente de metal o vidrio; se sella bien y se coloca en el horno (40°C -50°C) hasta que el licor se derrita.
- 2.5 Se remueve el licor, se coloca en una lata bien sellada, u otro recipiente apropiado, que no permita entrar el aire y que no transmita ningún sabor al licor. Se debe mantener a temperatura ambiental o más fría.

Evaluación del licor

1. Determinación del cacao.

- 1.1 Para el fabricante, la evaluación sensorial es la única prueba confiable para determinar si puede utilizar determinado cacao para sus productos.
- 1.2 En un país o región, la información sensorial es válida para encauzar los esfuerzos en relación con aquellas variables que se consideran importantes en cuanto a la calidad. Además, permite comparar los distintos tipos de cacao; por ejemplo "Accra". Este tipo de análisis puede resultar útil para detectar la presencia o ausencia de componentes individuales del perfil

de sabor. También puede ser útil para identificar posibles maneras de mejorar la calidad de cacao y uniformar la calidad en un área determinada.

- 1.3 La desventaja de este método es que requiere un jurado bien capacitado, constituido al menos por cinco personas. Cada miembro del jurado evalúa cada muestra; para ello, utiliza un vocabulario de descriptores bien definidos y procura indicar las intensidades percibidas, de acuerdo con esos descriptores. Eso implica muchas horas de capacitación para los miembros del jurado; incluye la definición de una lista de descriptores y la utilización de una biblioteca de muestras de cacao de los distintos países productores, con características reconocidas.
- 1.4 Al establecer un jurado, será necesario contar con la ayuda de personas que ya hayan realizado este tipo de evaluación.

2. Procedimiento

- 2.1 El jurado de cinco a diez miembros se reúne cuatro veces por semana, durante media hora en cada oportunidad.
- 2.2 La prueba se efectúa en un cuarto o cubículo oscuro y silencioso.
- 2.3 Es responsabilidad del jefe del jurado, que no prueba las muestras, conseguir todos los materiales para cada sesión, con el propósito de facilitar la discusión entre los miembros del jurado y proveer un marco operacional para cada sesión, basado en resultados anteriores y en los objetivos del proyecto. El jefe es un observador imparcial; nunca debe dar la impresión de saber el significado de los términos (Stone y Sidel 1985).
- 2.4 Cada miembro del jurado recibe una muestra numerada.
 - Prueba la muestra, colocando una pequeña cantidad en la boca.
 - Evalúa la muestra, completando y marcando la papeleta especial para la degustación del licor.

- Luego mastica una galleta de soda, seguido por un trago de agua para eliminar cualquier resabio gustativo y queda listo para una nueva muestra.

2.5 Al lado izquierdo de la **Papeleta de Degustación de Licor** aparecen las características básicas de sabor. Cada línea se divide en categorías de intensidad:

Cuadro 7. Papeleta de degustación de licor.

Muestra # Fecha: _____				
Características básicas de sabor	Débil	Obvio	Se hace más predominante	Fuerte
Categoría de Intensidad (núm.)				
Detectado				
Básico				
Cacao				
Agrio				
Amargo/Astringente				
Sabor de frutas/Vino				
Otros descriptores defectuosos				
Otros				
+				
RECHAZADO	ACEPTABLE	MUY BUENO	ACEPTACION GLOBAL	
COMENTARIOS _____				

- El largo de cada línea está establecido, usualmente de cinco a seis pulgadas. Para cada característica de sabor, se

determina un número, midiendo desde el final izquierdo de la línea hasta la marca indicada en la escala de intensidad por el miembro del jurado. Ese es el número que se usa para el análisis.

- Se debe notar que el largo de la línea de la papeleta debe ser igual para todos los análisis y debe estar normalizado.
- Se prueba cada muestra de licor de dos a cuatro veces, en sesiones diferentes.

3. Evaluación y registro.

3.1 El análisis del modelo de variancia es el procedimiento estadístico más apropiado para analizar los resultados del jurado.

3.2 Analice los datos, utilizando el modelo lineal general de análisis de variancia de doble propósito; indique los efectos tanto del sujeto como de la muestra. También se evalúan las interacciones sujeto-muestra cuando el ensayo incluye determinaciones múltiples.

3.3 El análisis de variancia no especifica qué muestras son diferentes. Hay que hacer cálculos adicionales después de la prueba de F o de las pruebas de alcance múltiple. Por ejemplo, se pueden incluir las siguientes: Duncan, Newman, Keul, Tukey (a) o Scheffé. Esencialmente, se determina el valor crítico y se considera que las diferencias medias mayores son significativas.

3.4 Es responsabilidad del jefe del jurado registrar los resultados. El jefe orienta la conversación y somete las conclusiones de la prueba. Luego redacta el informe.

4. Selección y capacitación de los miembros del jurado (Meilgaard 1987)

4.1 El desarrollo de un jurado de degustación requiere mucha reflexión y planificación en cuanto a las necesidades de los miembros, el apoyo necesario para la organización de las tareas, la disponibilidad e interés de los candidatos, la selección de muestras para la capacitación, y la disponibilidad y condición

de la sala o de los cubículos que han de utilizarse. El éxito o el fracaso dependerá de los criterios y procedimientos estrictos del proceso para seleccionar y capacitar a los miembros del jurado. Establecer este tipo de jurado requiere mucho tiempo y gran conocimiento técnico.

- 4.2 Personal. Es necesario contar con un grupo numeroso de candidatos para seleccionar entre ellos a los miembros del jurado, y con personal calificado para capacitar y seleccionar a los candidatos y establecer los procedimientos.
- 4.3 Instalaciones. Antes de conformar el jurado, es preciso designar el área física para su selección, capacitación y trabajo permanente. Esta área debe ser suficientemente grande, presentar el ambiente adecuado, disponer de espacio para acomodar a los miembros del jurado y estar cerca del área en que se preparan las muestras y en que los integrantes del jurado van a trabajar.
- 4.4 Recolección y procesamiento de datos. Se debe disponer de personal, equipo y programas de computación que se utilizarán para recopilar y procesar los datos generados por los miembros del jurado.
- 4.5 Selección. Para un jurado de 15 miembros hay que preseleccionar, mediante la utilización de cuestionarios, de 40 a 50 candidatos. De los 40 a 50 candidatos, generalmente de 20 a 30 cumplirán con los requisitos en ese momento. Para calificar, el candidato debe:
 - Indicar que no existe ninguna causa médica, o de otra índole, que limita su percepción.
 - Estar disponible para las sesiones de capacitación.
 - Responder correcta y claramente a un 80% de las preguntas verbales.
 - En el ejercicio de puntuación (utilizando el cuestionario), debe asignar calificaciones que caigan dentro del 10% del valor correcto para todas las cifras.

4.6 Pruebas eliminatorias. Enseñan al candidato cómo utilizar el procedimiento y, a la vez, eliminan a los candidatos que no califican.

- Se usan las **pruebas de pareo** para determinar la habilidad del candidato de discriminar y describir las diferencias (atributos) de varias muestras de licores. El candidato tiene que describir los atributos en sus propias palabras. Deberá describir un 80% de las muestras, utilizando términos químicos, comunes o relacionados; deberá describir las demás muestras en términos menos precisos.
- Se utilizan las **pruebas de detección y discriminación**, con el fin de determinar la habilidad del candidato para detectar las diferencias entre productos similares con variables, en los ingredientes. Normalmente se usan productos de diferentes grados de sabor dulce o amargo.
- Se usan las **pruebas de clasificación y calificación** para determinar la habilidad de discriminar los niveles diferenciales de intensidad de un atributo específico. Los candidatos deben clasificar o calificar algunas muestras de licor, basándose en la selección de atributos claves, utilizando la técnica que será usada por el jurado.

4.7 Interpretación de los resultados de las pruebas de eliminación. Se realiza de la siguiente manera:

- **Pruebas de pareo.** Se rechaza a los candidatos que acierten en menos del 75% de los pareos; y a quienes logren menos de 60% al escoger el descriptor correcto en las pruebas de atributos.
- **Pruebas de detección/discriminación.** Cuando se usa la prueba triangular, se rechaza a los candidatos que logren menos de 60% en las pruebas fáciles o menos de 40% en las pruebas moderadamente difíciles. En la prueba *Duotrio*, se rechazan los candidatos que logran menos de 75% en las pruebas fáciles y menos de 60% en las pruebas moderadamente difíciles.

- Pruebas de clasificación/calificación. Se acepta a los candidatos que clasifiquen las muestras correctamente o que inviertan sólo los pares adyacentes. En cuanto a la calificación, se debe utilizar el mismo orden y los mismos criterios; se espera que el candidato use gran parte de la escala prescrita cuando las muestras cubren una amplia gama de intensidad.

4.8 Entrevista personal. Se requiere para determinar si los candidatos se adaptan apropiadamente a la dinámica del grupo y al enfoque analítico. El propósito de la entrevista es confirmar el interés de los candidatos en la capacitación y su adecuación a las diversas etapas de trabajo del jurado, incluida la disponibilidad para la intensidad del trabajo, para supervisar y viajar. La entrevista también refleja las destrezas y personalidad del candidato.

4.9 Capacitación

- Desarrollo de terminología e introducción al proceso de clasificación. En esta etapa inicial se muestran al jurado las principales variedades del licor. Se utilizan como marco de referencia muestras de licor de distintos orígenes (Accra, Lagos, entre otras) que representen el mayor número de características diferentes. Primero se explica a los miembros del jurado cuáles son los principios de sabor que afectan la percepción de cada atributo de la muestra. Utilizando esos conceptos y términos como base, el jurado desarrolla procedimientos para la evaluación, y determina con precisión la terminología, con las correspondientes definiciones y las referencias sobre el origen del licor. Luego se hace una lista exhaustiva de descriptores (puede tomar hasta 20 horas prepararla), y, por último, se presenta el método de clasificación que se basa en muestras que representan intensidades débiles y fuertes de los atributos principales.
- Práctica inicial. Se presenta al jurado una serie de muestras de licor, que se evalúan una por una. Representan una amplia gama de atributos y diferencias de intensidad. En esta etapa inicial de desarrollo (15 a 40 horas), el jurado tiene que adquirir destrezas básicas y confianza.

- **Pequeñas diferencias en las muestras.** El jefe del jurado recoge muestras que representan pequeñas diferencias. El jurado continúa el refinamiento del procedimiento de evaluación y la determinación de la terminología para detectar y describir las diferencias de las muestras. Esta etapa representa de 10 a 15 horas del tiempo del jurado.
- **Práctica final.** Durante esta fase de la capacitación (de 15 a 40 horas), el jurado sigue probando y describiendo varias muestras del licor. Las últimas muestras probadas deben ser similares a la situación real en la cual el jurado trabajará.

Durante todas las fases de la capacitación, los miembros del jurado deberán reunirse después de la sesión para analizar los resultados, resolver problemas y pedir muestras de referencias adicionales para revisión. Esa interacción es esencial para desarrollar una terminología común, procedimientos de evaluación y técnicas de clasificación, que caracterizan a un buen jurado de evaluación de licores.

- **Ejecución.** Es necesario controlar la posibilidad de reproducir la ejecución de las pruebas efectuadas por cada miembro del jurado y por el jurado, en general. Se usa el análisis de variancia para evaluar la ejecución de las pruebas realizadas por los miembros del jurado para cada atributo, como parte del análisis general de los datos.

OTRAS PRUEBAS Y MUESTREOS

Prueba confirmatoria de muerte del embrión (Grupo de Fermentación de Hershey)

Esta prueba se realiza para determinar con rapidez si la muerte de la semilla ocurrió durante la fermentación del grano de cacao.

○ Materiales

- Hoja de afeitar.
- Estereoscopio o lupa.
- Aceite de inmersión para la microscopía (si se usa el microscopio).
- Aceite para niños (si se utiliza una lupa)
- Muestra representativa de las almendras en fermentación.

○ Procedimiento

1. Divida la almendra longitudinalmente en dos partes.
2. Cubra con aceite la superficie cortada de una de las mitades de la almendra, si está utilizando el microscopio o lupa.
3. Observe la parte cortada de la almendra, mediante un estereoscopio o una lupa.
4. Determine el porcentaje de vacuolas rotas. Una vacuola intacta se presentará como un punto violeta. Una vacuola rota liberará material celular, incluido el pigmento (verá color), más difuso.

5. Los resultados se reportan como el porcentaje de vacuolas rotas por almendra.
6. El total de vacuolas rotas en todas las muestras confirma la muerte de la almendra. El cincuenta por ciento de vacuolas rotas indica que faltan 24 horas de fermentación.

○ Notas

1. Este procedimiento se desarrolló para reemplazar la prueba de germinación, que puede tardar varios días (hasta dos semanas). Los resultados de la prueba de germinación serían negativos después de algunos días de fermentación, mientras que los resultados de la prueba de corte mostrarían un ciento por ciento de almendras muertas después de cuatro días de fermentación, sin tener que esperar la germinación.
2. Este método requiere experiencia para determinar la ruptura de las vacuolas, y para asignar un porcentaje a la muestra.
3. Se utilizó una muestra de 100 almendras como forma estadística para validar la metodología.
4. Se podría utilizar un número más práctico, siempre y cuando se seleccionen las almendras de distintas áreas de la masa de fermentación para obtener una muestra representativa; podría ser una prueba rápida para usar en el campo.

Medición del índice de antocianinas

Su objetivo es medir los cambios en el contenido de antocianinas en los cotiledones de cacao durante la fermentación. A medida que la fermentación progresa, la razón de absorción de antocianinas a 460 nm y 530 nm aumenta notablemente.

○ Materiales

- HC1 1% en metanol (de grado) analítico.
- Treinta y tres cuartos de almendras cortadas longitudinalmente.

- Botellas cuadradas de 100 ml (*French Square Bottle*) u otras botellas similares.
- Mezclador *Tekmar* o uno similar, con una sonda grande de 18 milímetros.
- Papel de filtro estriado *Whatman* núm. 2.
- Espectrofotómetro (B 6 L Espec 21) u otro similar.

○ Procedimiento

1. Vierta 80 ml de HC1-metanol 100% en una botella cuadrada tipo *French*, junto con los 33 cuartos de almendras tomados de la muestra compuesta.
2. Remueva para homogenizar las almendras (60 s) a 65% de velocidad).
3. Filtre la mezcla homogeneizada por el papel de filtro *Whatman* a una probeta.
4. Coloque 0.1-0.2 ml del filtrado en un tubo del espectrofotómetro, añada 4.5 ml del HCA-metanol al 1% y remueva. Se utiliza 0.1 ml para las muestras de fermentación temprana y 0.2 ml para las muestras más fermentadas.
5. Caliente el espectrofotómetro durante 30 min y ajuste a 460 nanómetros.
6. Coloque un tubo vacío, que contenga sólo el HC1-metanol en el espectrofotómetro y ajuste a 0.00 de absorbencia. Luego coloque el tubo de muestras en la cámara y mida la absorbencia a 460 nanómetros.
7. Repita el procedimiento de medición a 530 nanómetros; y reajuste el tubo vacío a 0.00 de absorbencia a 530 nanómetros.
8. Calcule la razón de absorbencia: $\text{absorbencia } 460 / \text{absorbencia } 530$, y regístrela. A medida que progresa la fermentación, esa razón aumentará (típicamente de 0.3 a 1.0).

EVALUACION MICROBIOLÓGICA

Cacao

El deterioro microbiológico de las semillas crudas de cacao es raro, debido al bajo coeficiente de actividad del agua (A_w) en ellas. Sin embargo, se han reportado en la literatura brotes ocasionados por *Salmonella* en el polvo de cacao (Gästrin *et al.* 1972) y se ha demostrado la intervención del cacao como materia prima contaminante (Bryan *et al.* 1987).

Por esta razón, en una industria de productos de chocolate, es conveniente establecer controles utilizando las prácticas recomendadas para la manufactura (CAC 1979) y asegurar la calidad microbiológica integrando al proceso el *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP) (Bryan 1987) dentro de un código de prácticas de higiene. Hoy no se puede asegurar la calidad microbiológica sólo mediante el monitoreo del producto final; también deben aplicarse sistemas como el HACCP.

Las técnicas utilizadas para la detección de *Salmonella*, así como los planes de muestreo adecuados, están descritos por la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos de América en su *Bacteriological Analytical Manual* (BAM) (FDA 1984).

También debe tomarse en cuenta el recuento de hongos y levaduras en placa, aunque la técnica más apropiada para esta evaluación continúa siendo la "prueba de corte". Este recuento es muy útil para efectos demostrativos, sobre todo con personas que no forman parte del personal del laboratorio y que visualmente le indican al proveedor o productor, de una manera muy precisa, el grado al que llega la contaminación por moho. El procedimiento para realizar el recuento estandarizado desde hace años, también se encuentra en el BAM anteriormente citado.

Determinación de aflatoxinas

La determinación de aflatoxinas siempre resulta importante dada la toxicidad de estas micotoxinas. El método utilizado es el descrito por el AOAC o bien con algunas modificaciones; por ejemplo, uso de minicolumnas tipo SPE.

El cacao, sin embargo, ofrece una resistencia natural a la producción de aflatoxinas por parte del hongo *Aspergillus paraistucus*. La presencia de metilxantinas, especialmente de la cafeína, inhibe la producción de aflatoxinas aun en condiciones ideales de cultivo. La distribución uniforme de la cafeína en el grano depende del grado de fermentación. Una fermentación incompleta supone una distribución irregular de la cafeína. Así, un cacao bien fermentado ofrecerá una resistencia mayor a la producción de aflatoxinas.

El mecanismo por el cual funciona la cafeína no se conoce bien, pero podría suponerse que actúa sobre el zinc, ocasionando su falta de disponibilidad biológica, y se sabe que el Zn es esencial para la producción de aflatoxinas.

BIBLIOGRAFIA

ANDREWS, W.M.; READ, R.B. 1984. Enumeration of yeast and molds. In Bacteriological analytical manual. 6 ed. FDA.

BRYAN, F.L., CHRISTINA, J.H.B., ROBERTS, T.A., SILLIKER, J.H.; SIMONSEN, B.; TOMPKIN, R.B. 1987. Prevention and control of foodborne salmonellosis through application of hazard analysis critical control point (HACCP). Internat. J. Food Microbiol. 4:227-247.

CAC (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION). 1979. Recommended international code of practice: General principles of food hygiene. FAO/WHO, Food Standard Programme. Rome, v. A.

CCCA (COCOA, CHOCOLATE AND CONFECTIONERY ALLIANCE. 1984. Cocoa beans. Londres. p. 16-17.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). 1984. Food sampling plans and initial sample handling. In Bacteriological analytical manual. 6 ed.

_____ . 1984. Isolation and identification of *Salmonella* sp. In Bacteriological analytical manual. 6 ed.

GÅSTRIN, B.; KAMPA, A.; NYSTROM, K.; ODEN-JOHANSON, B.; WESSEL, G.; ZETTERBERG, B. 1972. An epidemic of *Salmonella durham* caused by contaminated cocoa. Lakartidningen 69:5335-5338.

LENORICH, L.M. 1981. ? Journal Food of Sciences 46(2):655-657.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. 1987. Sensory evaluation techniques. Boca Ratón, Florida, CRC Press.

ROHAN, T.A. s.f. Processing of raw cocoa for the market. FAO. Agricultural Studies no. 60.

- STONE, H.; SIDEL, J.L. 1985. Sensory evaluation practices. Academic Press. p. 194-226**
- TRAINING SEMINAR ON COCOA GRADING. 1972. Lagos, Nigeria. FAO.**
- WILLIAMS, S. (Ed.). 1984. Official methods of analysis of the AOAC, 14 ed. Arlington.**
- WOOD, G.A.R.; LASS, R.A. 1985. Cocoa. 4 ed. London, Longman Press. p. 505-527.**

ANEXO 1

**Fig. 1. Guía para la ejecución de la prueba de corte.
Procedimiento modificado.**

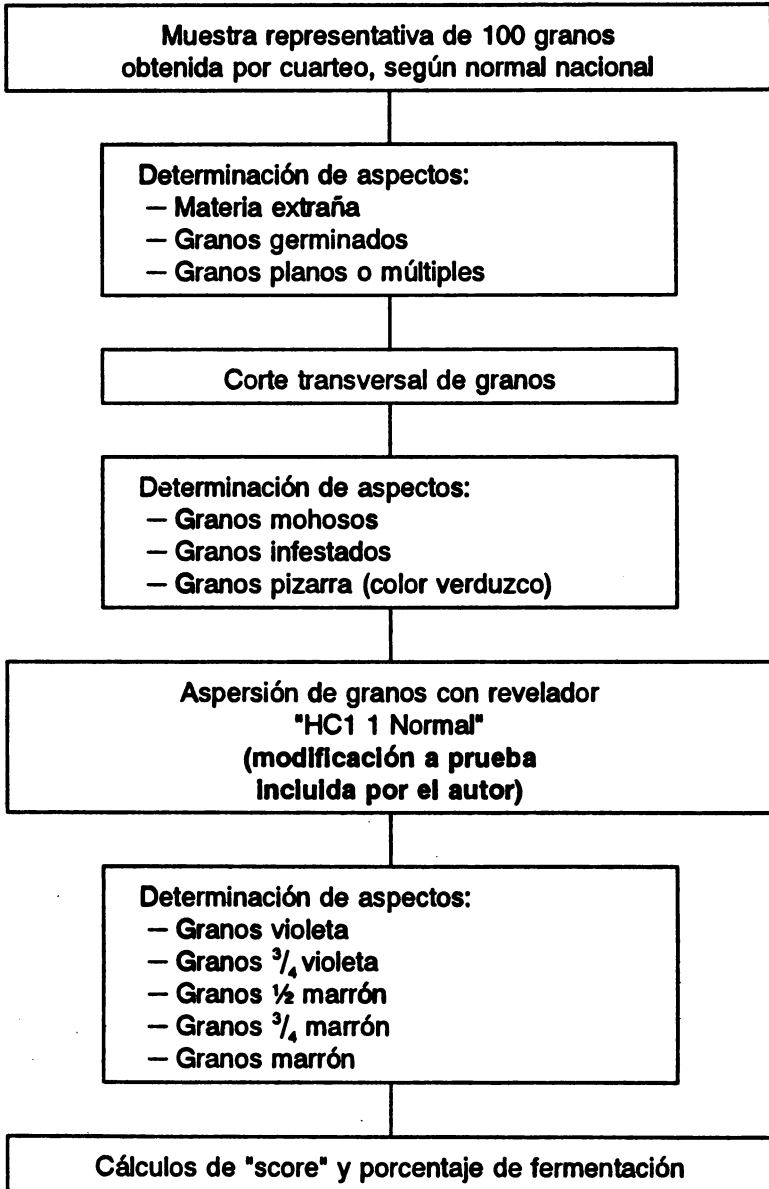
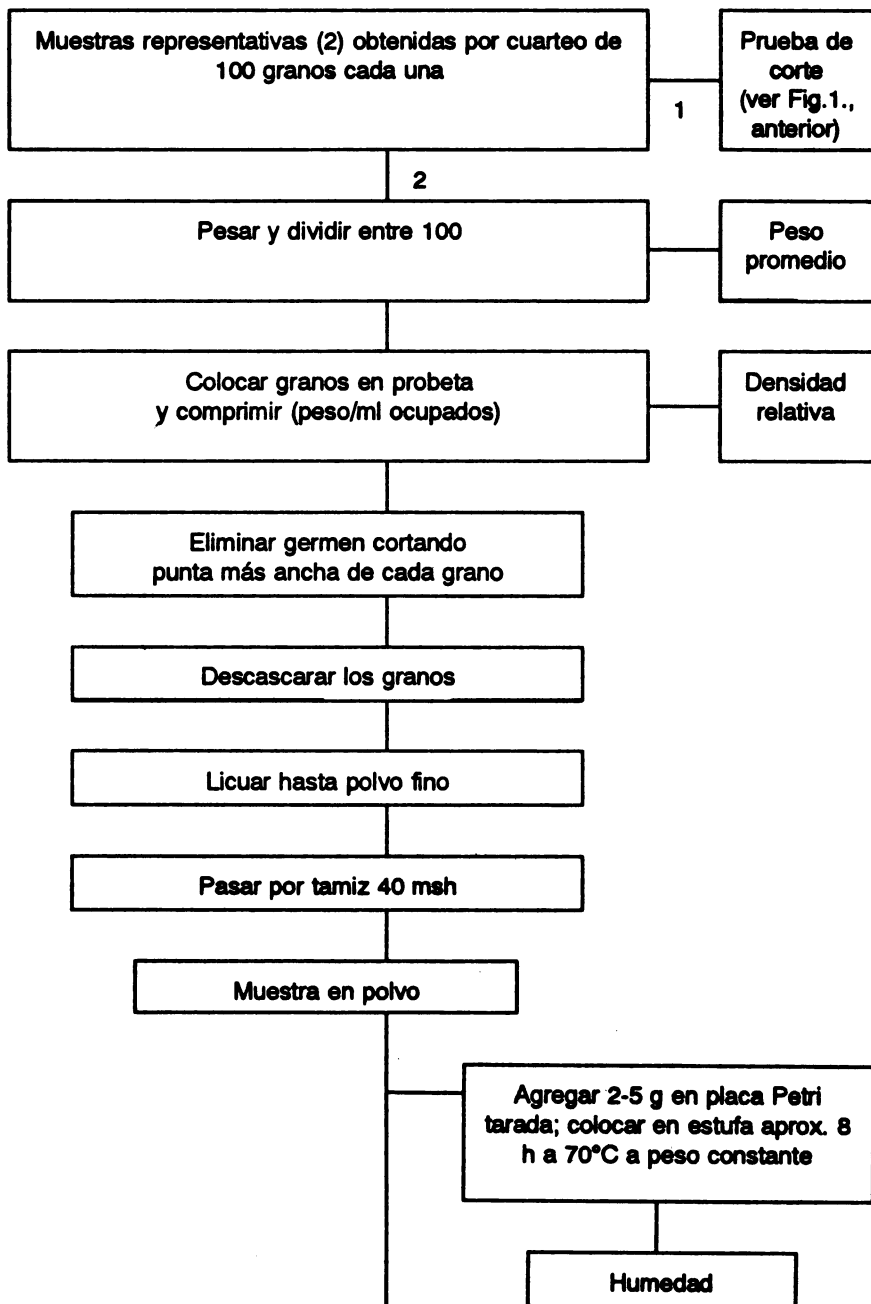


Fig. 2 Guía del procedimiento unificado para la evaluación de calidad del cacao seco en grano.

(Continuación Fig. 2).

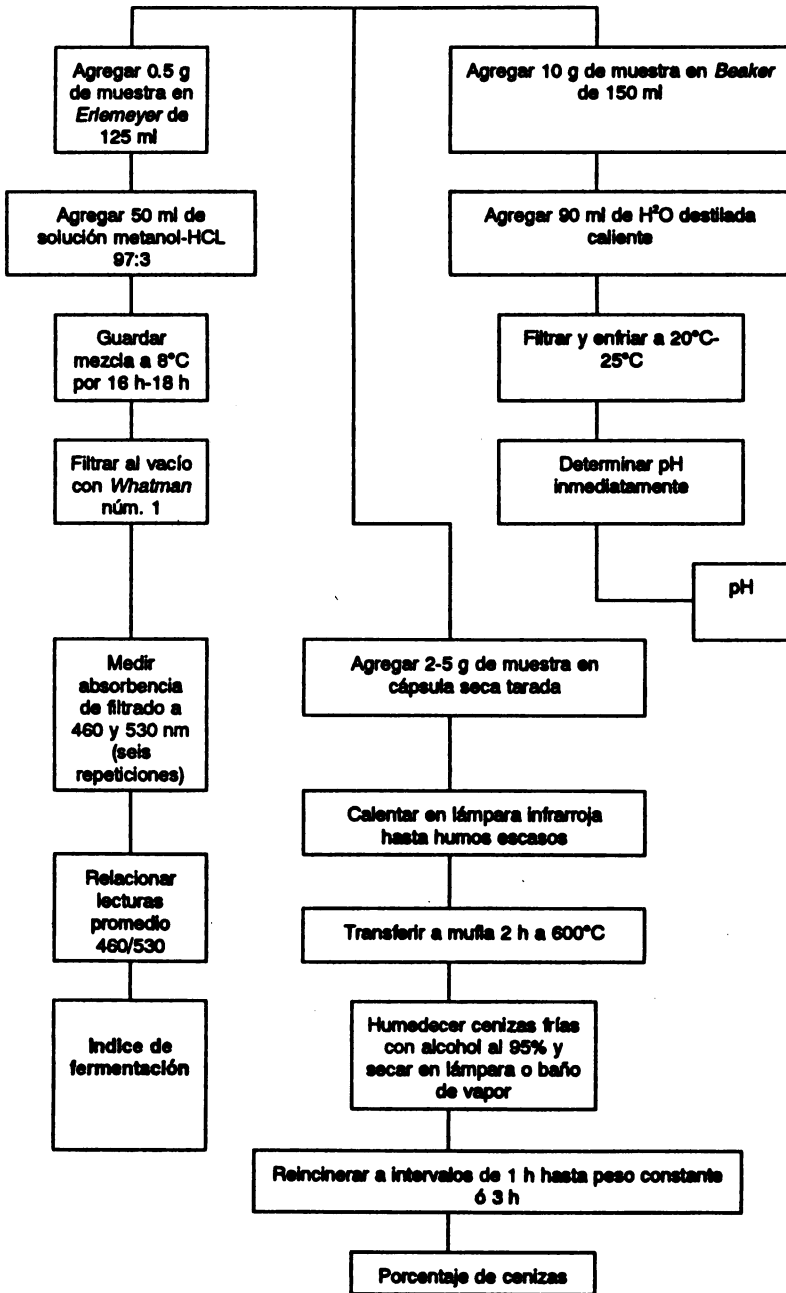
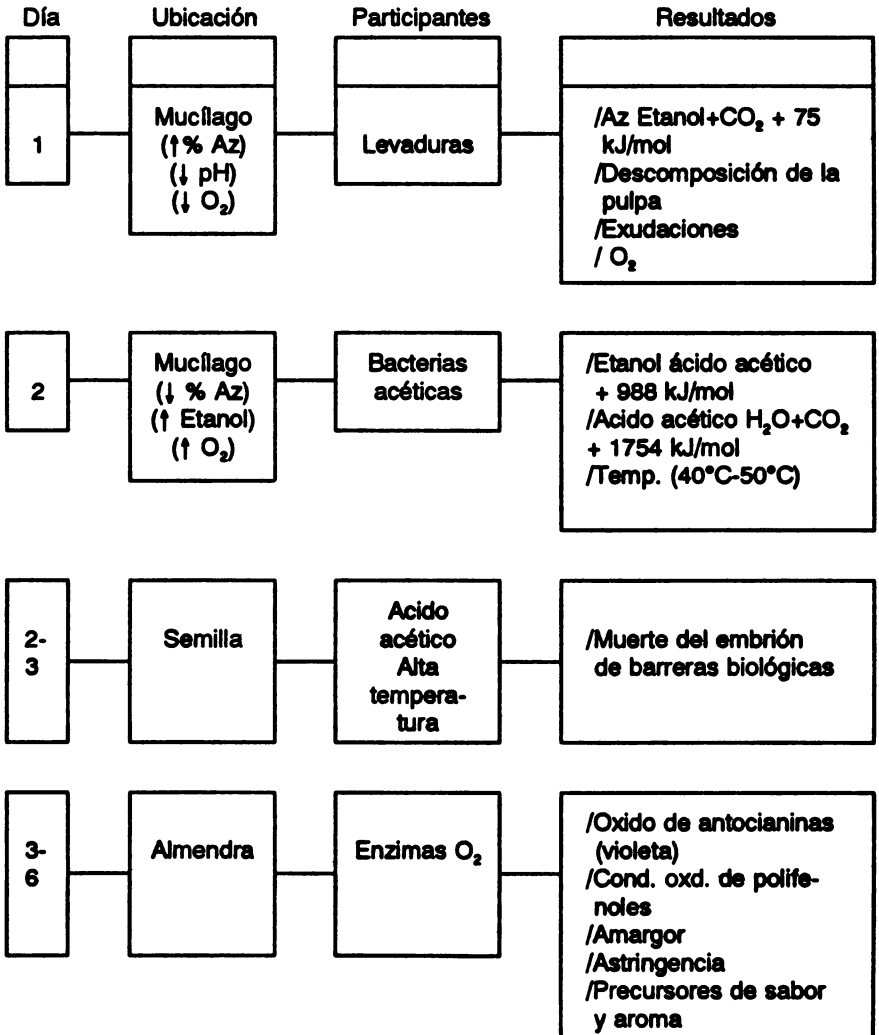


Fig. 3. Cronograma de la fermentación del cacao.



**Esta edición se terminó de imprimir
en la Sede Central del IICA
en Coronado, San José, Costa Rica,
en el mes de marzo de 1993,
con un tiraje de 100 ejemplares.**



INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA
Sede Central Apdo. 55-2200 Coronado, Costa Rica / Tel.: 29-02-22/
Cable: IICASANJOSE/Télex: 2144 IICA CR / FAX (506) 29-47-41, 29-26-59 IICA COSTA RICA