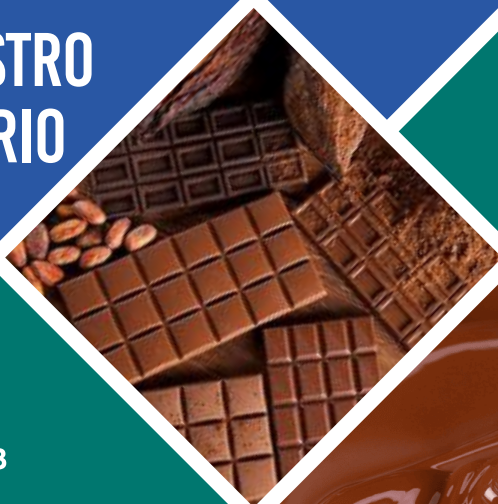


DESDE NUESTRO
LABORATORIO

REPORTE DE
LABORATORIO
LAB-IN-017/2023



NETZSCH
Proven Excellence.

SERVOLAB

USO DE LA CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO EN CHOCOLATES COMERCIALES

RESUMEN El estudio del polimorfismo en grasas sólidas, tales como la manteca de cacao y principal componente del chocolate, es realizable utilizando diferentes técnicas analíticas instrumentales. En la industria del chocolate, la búsqueda del producto deseado se ve influenciada por la presencia de un determinado polimorfo de la manteca de cacao, el cual puede obtenerse dependiendo de las temperaturas a las que es tratado el chocolate durante su elaboración. El objetivo del presente reporte técnico es utilizar la técnica analítica de calorimetría diferencial de barrido para la determinación del polimorfismo en chocolates. Para los análisis se utilizaron tres diferentes tipos de chocolates comerciales (chocolate con leche, blanco y oscuro). El tamaño de las muestras fue de aproximadamente 10 mg. Los análisis se realizaron en un calorímetro diferencial de barrido marca NETZCH, modelo DSC 214 Polyma (Fig. 1a) siguiendo un programa controlado de calentamiento-enfriamiento-calentamiento. Los resultados obtenidos permitieron verificar, según las temperaturas de fusión detectadas, la presencia del polimorfo más estable (polimorfo V) en el chocolate con leche y el chocolate oscuro; mientras que el chocolate blanco mostró la presencia del polimorfo VI, también estable. Este método muestra la ventaja de la reducción del lapso de tiempo en la obtención de los perfiles de temperatura mediante velocidades de calentamiento y enfriamiento de hasta 500 K/min, de esta forma realizando la comparación de polimorfismos de las diferentes muestras de chocolate para la determinación de su calidad.

Palabras claves: polimorfismo, chocolate, DSC, análisis térmico

USE OF DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY FOR THE IDENTIFICATION OF POLYMORPHISM IN COMMERCIAL CHOCOLATES

ABSTRACT The study of polymorphism in solid fats, such as cocoa butter and the main component of chocolate, can be done using different instrumental analytical techniques. In the chocolate industry, the search for the desired product is influenced by the presence of a certain polymorph of cocoa

DANIEL GONZÁLEZ¹, RICHARD HENRÍQUEZ¹, EUCLIDES JOSÉ VELAZCO¹, JOSUÉ DAVID MAGO ARREDONDO¹,
JOSÉ MANUEL MAGO MARCANO¹

Laboratorio de Ensayos, Servolab Overseas, Inc., Puerto Ordaz, Venezuela
dirlab@servolab.com.ve

butter, which can be obtained depending on the temperatures at which the chocolate is treated during its production. The objective of this technical report is to use the analytical technique of differential scanning calorimetry for the determination of polymorphism in chocolates. Three different types of commercial chocolates (milk, white and dark chocolate) were used for the analyses. The sample size was approximately 10 mg. The analyzes were carried out in a differential scanning calorimeter NETZCH, model DSC 214 Polyma (Fig. 1a) following a controlled heating-cooling-heating program. The results obtained allowed us to verify, according to the melting temperatures detected, the presence of the most stable polymorph (polymorph V) in milk chocolate and dark chocolate; while white chocolate showed the presence of polymorph VI, also stable. This method shows the advantage of reducing the time lapse in obtaining temperature profiles through heating and cooling rates of up to 500 K/min, thus carrying out the comparison of polymorphisms of the different chocolate samples for the determination of its quality.

Key words: polymorphism, chocolate, DSC, thermal analysis

INTRODUCCIÓN

El polimorfismo comprende la capacidad que tiene un compuesto de cristalizar en varias formas estructurales. El polimorfismo está presente en la naturaleza, ya que lo podemos encontrar en las variantes cristalinas del carbonato de calcio (calcita-aragonito-vaterita) o del carbono (diamante-grafito). Sin embargo, éste también puede encontrarse en los productos alimentarios. Algunos componentes mayoritarios, como los triacilglicérols, presentes en ciertas grasas y aceites de alimentos, como el chocolate, presentan polimorfismo (ILUSTRE COLEGIO OFICIAL DE GEÓLOGOS, 2017).

Muchas de las variedades de chocolate que existen en el mercado (negro, blanco o con leche) contienen tres constituyentes básicos en distintas proporciones: manteca de cacao, pasta de cacao y azúcar (OSTROWSKA-LIGĘZA ET AL. 2018). De estos tres componentes, la manteca de cacao, el cual está principalmente constituida por triacilglicérols, es el que presenta un comportamiento polimórfico. Ahora bien, los tres triacilglicérols básicos que se encuentran en la manteca de cacao son clasificados, por la combinación de ácido palmítico (P), ácido oleico (O) y ácido esteárico (S), como POP, POS y SOS. Cuando se mezclan estos triacilglicérols en la manteca de cacao, manifiestan seis formas polimórficas (formas I, II, III, IV, V y VI), los cuales siguen ese orden creciente en estabilidad y punto de fusión (Tabla 1).

Las propiedades deseadas del chocolate, a la hora de su preparación, están definidas por el punto de fusión de los polimorfos. La caracterización de las formas cristalinas de estos polimorfos resulta decisiva en las aplicaciones de los mismos en la industria alimenticia,

Tabla 1. Temperaturas de fusión de los seis polimorfos que se encuentran en el chocolate.

Polimorfo	Punto de fusión (°C)
I	17
II	23
III	25
IV	27
V	33
VI	36

esto para satisfacer las necesidades del producto deseado por el consumidor. Di allí que, durante la fabricación del chocolate, la industria chocolatera trata de obtener un producto con manteca de cacao que presente la estructura polimórfica V. Otros procesos que se ven influenciados por la caracterización de los polimorfos de la manteca de cacao involucran la optimización de los procesos industriales en la fabricación del chocolate y el desarrollo de nuevos productos que requiera el demandante mercado.

En función a lo antes mencionado, los procesos de control de la producción en la industria chocolatera requieren de una respuesta rápida en los análisis de las muestras enviadas al laboratorio para la verificación de la calidad de los chocolates. Algunas técnicas de caracterización del chocolate incluyen la difracción de rayos X (XRD) y la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), las cuales no resultan ser tan eficaces para caracterizar y diferenciar los polimorfos del mismo. Por otro lado, las normas ISO 11053:2009, ISO 23275-1:2006, ISO 23275-2:2006 hacen uso de la cromatografía líquida-gas de capilaridad de alta resolución (HR-GLC, por sus siglas en inglés) para la determinación y cuantificación de fracciones de triacilglicérols en

manteca de cacao, chocolate de leche y chocolates simples. Mientras que las normas ISO 8292-1:2008, ISO 8292-2:2008 de carácter general de determinación de grasas sólidas en aceites y grasas vegetales y animales, entre las que se incluyen la manteca de cacao, hacen uso de la espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN) pulsada de baja resolución. De allí que, la calorimetría diferencial de barrido (DSC, differential scanning calorimetry) se ha posicionado como una poderosa técnica para la identificación de los polimorfos del chocolate. Este reporte muestra un proceso de análisis rápido de tres tipos de chocolate utilizando la técnica analítica de DSC usando el equipo NETZCH DSC 214 Polyma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Instrumentación

Se utilizó un calorímetro diferencial de barrido NETZCH DSC 214 Polyma (Fig. 1a) y una balanza analítica Precisa 520 PB-A, que cuenta con una precisión de 0,1 mg (Fig. 1b), para los análisis de las muestras de chocolate. El equipo DSC utilizado alcanza un rendimiento excepcional, el cual combina un horno de masa térmica muy pequeña (Arena®) con un sensor robusto y sensible (en forma de anillo) y en el que se utilizan crisoles optimizados (Concavus®) (Fig. 2). Este rendimiento junto con una velocidad de calentamiento y enfriamiento muy rápidos de hasta 500 K/min (valores que resultaban inalcanzables anteriormente para un DSC heat-flux o de flujo de calor) con lo que se pueden realizar cristalizaciones isotérmicas. Con este equipo se pueden obtener perfiles de temperatura que se acercan mucho más a las condiciones reales de proceso con velocidades de enfriamiento utilizadas típicamente de 10 o 20 K/min.

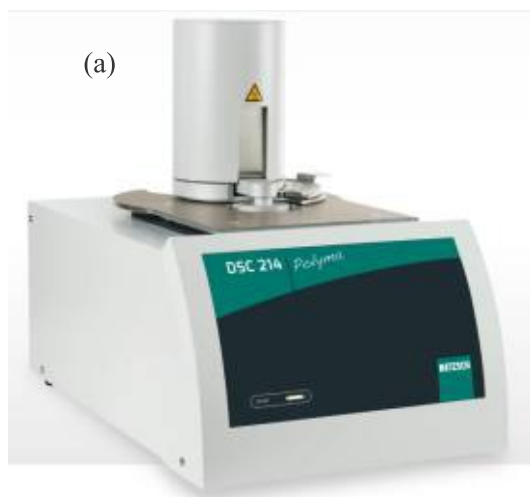


Figura 1. (a) NETZCH DSC 214 Polyma.



Figura 1.(b) Balanza analítica Precisa 520 PB-A.



Figura 2. Horno de masa térmica muy pequeña (Arena®) y portamuestras.

Preparación de la muestra

Se utilizaron tres tipos de chocolates comerciales (con leche, blanco y oscuro). Las muestras se cargaron en cápsulas de aluminio con una capacidad entre 10–50 μ l, las cuales se sellaron con una tapa de aluminio utilizando una prensa para impedir que, por problemas de dilatación o descomposición de la muestra, ésta se proyecte fuera de la cápsula contaminando el horno.

La cantidad de muestra utilizada puede ser variable, desde varios miligramos hasta 30 mg, así como el estado y forma de la misma. No obstante, la cantidad y forma de la muestra influyen bastante en la calidad y precisión de la medida. Debido a la baja conductividad térmica de la muestra, cuanto mayor sea la superficie de contacto entre la misma y el foco calefactor, más rápidamente se difundirá el calor a toda la masa de la muestra. Para efecto de los ensayos, se utilizaron aproximadamente 10 mg de cada chocolate en cada medición. En el pocillo de referencia se colocó una cápsula

vacía de igual tipo y forma que la que contiene la muestra a analizar (Fig. 3).

Análisis

La determinación de las fases cristalinas y otros parámetros de interés se realizaron mediante el análisis de

las curvas de DSC obtenidas para cada muestra de chocolate mediante el software NETZSCH Proteus – Thermal Analysis, versión 8.0.1. Las condiciones instrumentales del espectrómetro se listan en la Tabla 2 y el programa de calentamiento y enfriamiento ejecutado en las muestras se encuentra reflejado en la Fig. 3.

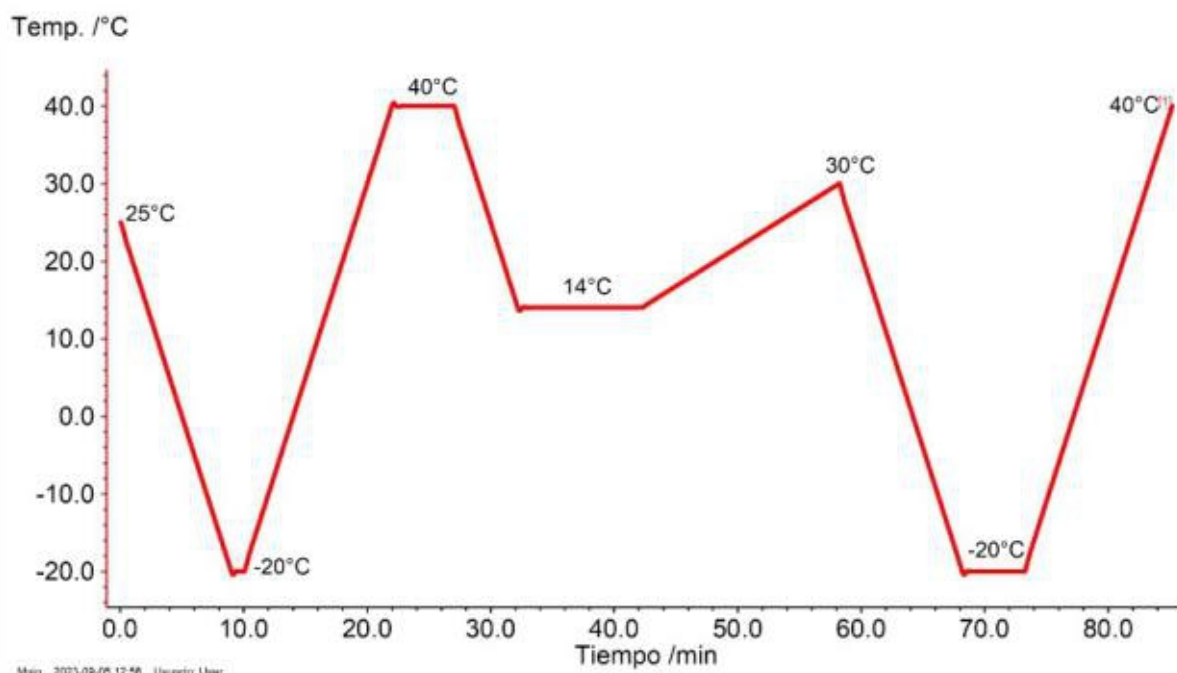


Figura 3. Grafico del comportamiento de temperatura y tiempo durante el análisis de los chocolates en el NETZCH DSC 214 Polyma.

Tabla 2. Condiciones instrumentales del equipo NETZCH DSC 214 Polyma para el análisis de los chocolates.

Parámetro	Ajuste
Flujo de argón	40 ml/min
Flujo protectivo	60 ml/min
Velocidad de calentamiento/enfriamiento	5,0 K/min
Tiempo de análisis	30:00 min
Rango de temperatura	-20°C a 40°C

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Durante el estudio del comportamiento de las muestras de chocolate en el DSC, se realizó un primer calentamiento, seguido de enfriamiento y un posterior segundo calentamiento. Durante este proceso (Fig. 3) se

sometió a la muestra a un enfriamiento hasta los 14°C por espacio de 10 minutos y luego calentamiento a 30°C, como paso posterior al primer calentamiento. Esto es considerado el paso de “atemperado” (FÜGLEIN s/f), el cual se considera una técnica de pre-cristalización controlada del chocolate. Esta técnica se usa para provocar la cristalización de la forma polimórfica sólida más estable (polimorfo V) y así evitar la

eflorescencia de la manteca de cacao, que es la aparición de una película blanca en la superficie del chocolate (fenómeno denominado Fat Bloom) y que reduce su calidad (ILUSTRE COLEGIO OFICIAL DE GEÓLOGOS 2017; RIVAS 2018). En la Fig. 4 se muestra el comportamiento de fusión del chocolate con leche. Para el polimorfo V, denominado modificación- β o polimorfo- β , y que representa el polimorfo deseado en la producción de chocolate, la fusión comienza lentamente en 27,1°C y alcanza su pico máximo en el primer calentamiento a 33,4°C, que confirma la presencia de dicho polimorfo en esta muestra. En comparación con el chocolate blanco (Fig. 5) y el chocolate oscuro (Fig. 6), tanto el chocolate con leche como el chocolate oscuro presentan una similitud en cuanto a los parámetros de inicio de proceso de fusión, pico de fusión y cristalización (Tabla 3); sin embargo, puede observarse en la Fig. 5 que se muestra una curva de fusión diferente a la de los otros dos chocolates y que puede ser debido a la composición de esta muestra (chocolate blanco). El pico máximo alcanzado en dicha muestra (35,3°C) sugiere que la posible estructura presente corresponde al polimorfo VI (36°C), el cual se considera un polimorfo estable.

Es importante mencionar que, el chocolate fundido se puede enfriar a aproximadamente 15°C tanto en el chocolate con leche como en el chocolate blanco antes de que esta parte comience a cristalizar (Figs. 4 y 5); mientras que para el chocolate oscuro es cerca de los 12°C (Fig. 6). A una velocidad de enfriamiento de 5 K/min, en las tres muestras se tarda hasta cerca de los -

10°C en cristalizarse por completo.

Para los tres chocolates estudiados, en los cambios observados en el DSC durante el segundo calentamiento se encuentra que estos comienzan a fundirse cerca de los 11°C (chocolate con leche y chocolate blanco) y los 9°C (chocolate oscuro), como lo demuestra el calor de reacción endotérmico. Estos valores son, coincidentalmente, similares a los puntos de cristalización observados en las curvas de enfriamiento en los tres chocolates. Mientras que la fusión se completa entre los 26-27°C en las tres muestras de chocolate, muy cercano a la temperatura a la que el chocolate original solo comenzó a derretirse en el primer calentamiento (ver Figs. 4, 5 y 6, y Tabla 3).

Ahora bien, la integral de las áreas de fusión y cristalización se consideran proporcionales a los valores de calor latente, por lo que estas son una medida del grado de cristalinidad de la muestra (FÜGLEIN s/f). Aunque las partes cristalinas de la muestra en el estado inicial dieron como resultado una entalpía de fusión de 94,66 $\mu\text{Vs/mg}$ (primer calentamiento del chocolate con leche), la entalpía de fusión fue solo de 59,23 $\mu\text{Vs/mg}$ para el segundo calentamiento (Fig. 4, Tabla 3). Estos valores fueron en aumento considerando el chocolate blanco y el chocolate oscuro (Tabla 3); sin embargo, la proporción entre ambos valores disminuye pasando desde el chocolate con leche al chocolate blanco y finalmente al chocolate oscuro, lo que es indicativo que el grado de cristalinidad varía de un tipo de chocolate a

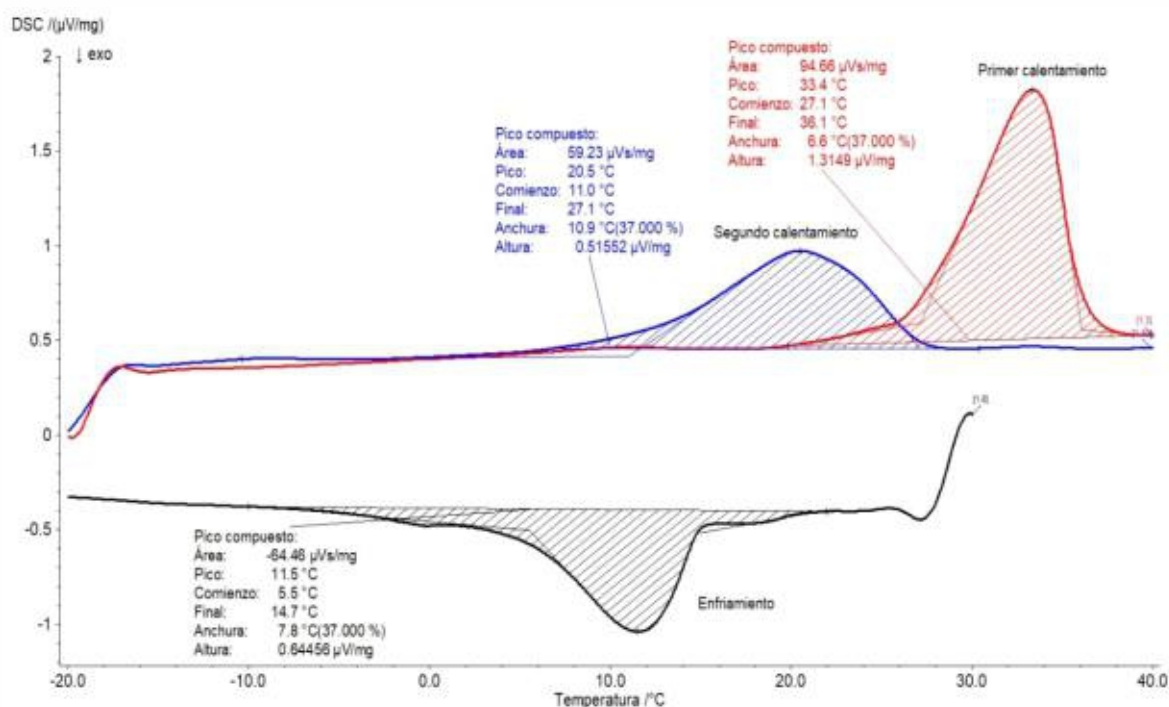


Figura 4. Gráfico de comportamiento de fusión y cristalización del chocolate con leche por medio de DSC.

otro. Se pone de manifiesto que, al enfriar el DSC a una velocidad lineal de 5 K/min, se produjeron diferentes modificaciones en los chocolates que condujeron a estructuras de bajo punto de fusión (~20°C en todas las muestras), sino también que el grado de cristalinidad

se redujo notablemente en cada uno de ellas. Esto confirma que es necesario un tratamiento térmico especial para que una gran proporción del polimorfo V sea obtenida durante la fabricación del chocolate.

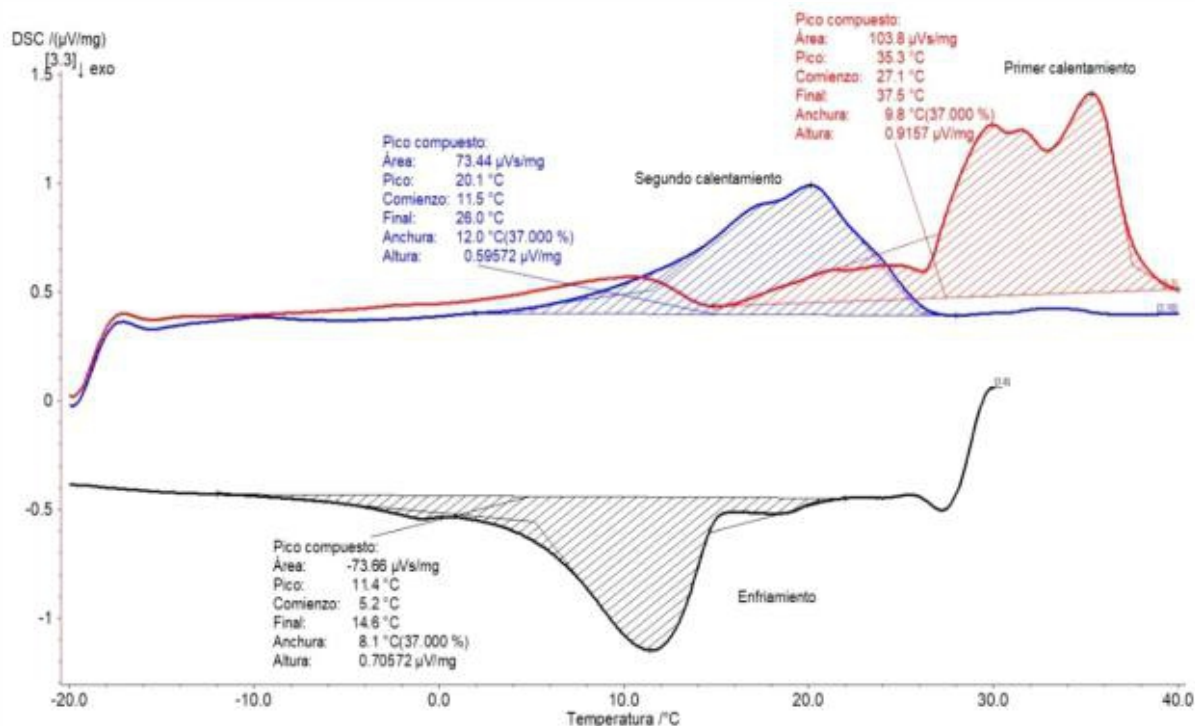


Figura 5. Gráfico de comportamiento de fusión y cristalización del chocolate blanco por medio de DSC.

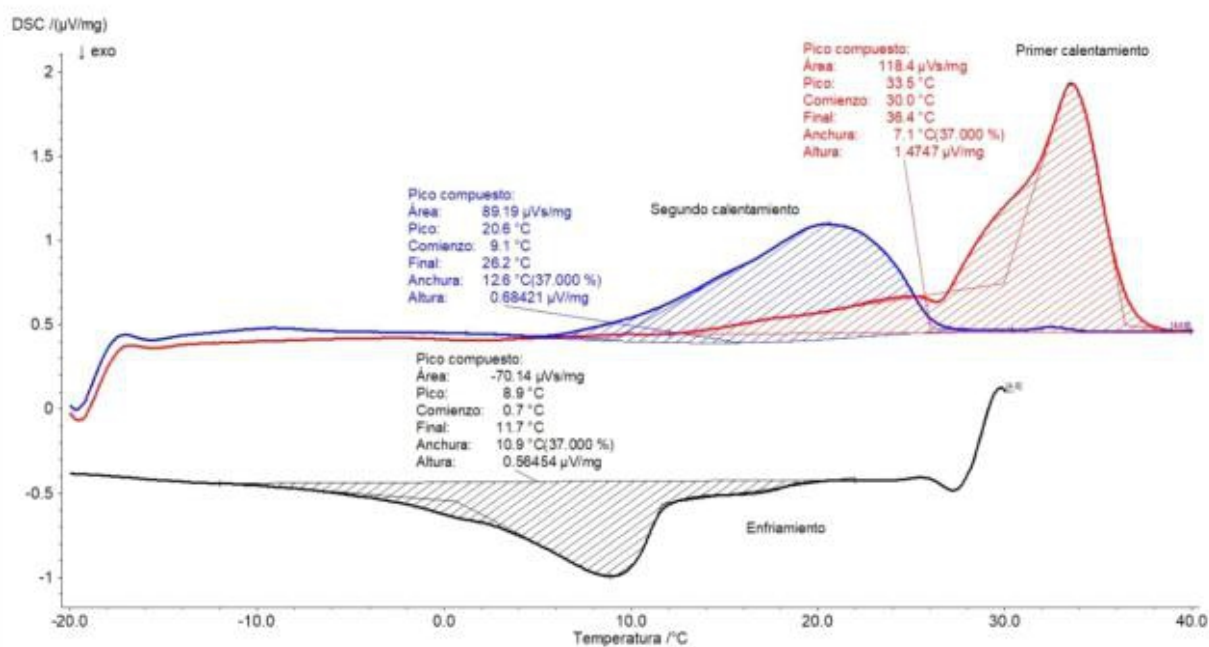


Figura 6. Gráfico de comportamiento de fusión y cristalización del chocolate oscuro por medio de DSC.

Tabla 3. Comparación de resultados obtenidos por DSC para los chocolates analizados.

Muestra	Primer calentamiento	Enfriamiento	Segundo calentamiento
Chocolate con leche	Pico= 33,4 °C Área=94,66 µVs/mg	Pico=11,5 °C Área= -64,46 µVs/mg Final enfriamiento=14,7 °C	Pico= 20,5 °C Área= 59,23 µVs/mg
Chocolate blanco	Pico= 35,3 °C Área= 103,8 µVs/mg	Pico= 11,4 °C Área= -73,66 µVs/mg Final enfriamiento= 14,6 °C	Pico= 20,1 °C Área= 73,44 µVs/mg
Chocolate oscuro	Pico=33,5 °C Área=118,4 µVs/mg	Pico=8,9 °C Área=-70,14 µVs/mg Final enfriamiento= 11,7 °C	Pico=20,6 °C Área=89,19 µVs/mg

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que la calorimetría diferencial de barrido permite obtener resultados confiables en la determinación del polimorfismo, crucial en el control de calidad de la fabricación de chocolates, permitiendo estudiar también el comportamiento de fusión y cristalización. El uso de la calorimetría diferencial de barrido puede ser una herramienta útil en la industria de la confitería en general, considerando que el azúcar y sus sustitutos, por lo general, constituyen un porcentaje en masa significativo de estos productos y las propiedades que pueden ser determinadas, tales como la temperatura de transición vítrea, punto de fusión, cristalinidad y la entalpía de transformación de fase, entre otras, tienen un gran impacto en las propiedades fisicoquímicas del chocolate, información que puede ser crucial para el procesamiento del mismo y para la estabilidad durante su almacenamiento.

ISO 23275-1:2006. 2006. Animal and vegetable fats and oils — Cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate — Part 1: Determination of the presence of cocoa butter equivalents.

ISO 23275-2:2006. 2006. Animal and vegetable fats and oils — Cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate — Part 2: Quantification of cocoa butter equivalents.

ISO 8292-1:2008. 2008. Animal and vegetable fats and oils — Determination of solid fat content by pulsed NMR — Part 1: Direct method.

ISO 8292-2:2008. 2008. Animal and vegetable fats and oils — Determination of solid fat content by pulsed NMR — Part 2: Indirect method.

OSTROWSKA-LIGĘZA E., MARZEC A., GÓRSKA A., WIRKOWSKA-WOJDYŁA M., BRYŚ J., REJCH A. & CZARKOWSKA K. 2018. A comparative study of thermal and textural properties of milk, white and dark chocolates. *Thermochimica Acta*. 971: 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2018.11.005>

RIVAS J.D. 2018. Aseguramiento de la calidad de chocolate mediante estandarización del proceso de atemperado con pruebas físicas e implementación de un programa de prerrequisitos de HACCP. Santiago, Chile: Universidad de Chile. [Trabajo de grado presentado para optar el título de Magister en Ciencia de los Alimentos], pp 52. Repositorio institucional de la Universidad de Chile <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/186936/Aseguramiento-de-la-calidad-de-chocolate-mediante-estandarizacion-del-proceso-de-atemperado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FÜGLEIN E. s/f. Chocolate. Disponible en línea en: <https://analyzing-testing.netzsch.com/es/application-literature/chocolate> (Acceso 08.08.2023)

ILUSTRE COLEGIO OFICIAL DE GEÓLOGOS. 2017. Deliciosos chocolate. *Tierra & Tecnología*. 49. Disponible en línea en: <http://www.icog.es/TyT/index.php/2017/01/deliciosos-polimorfos/> (Acceso 08.08.2023)

ISO 11053:2009. 2009. Vegetable fats and oils — Determination of cocoa butter equivalents in milk chocolate.