



DESARROLLO DE METODOLOGÍA PARA ESTUDIO DE VIDA ÚTIL ACELERADA EN CHOCOLATES

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2021/22

Alumno: Lucía Rodríguez Pérez

Tutor: Manuel Gómez Pallarés

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)
Universidad de Valladolid

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. El chocolate	2
1.1.1.Composición del chocolate	2
1.1.2.Características fisicoquímicas del chocolate.....	3
1.1.3.Alteraciones del chocolate	4
1.2. Vida útil de los alimentos.....	6
2. MATERIALES Y MÉTODOS	9
2.1. Descripción del producto.....	9
2.2. Diseño experimental. Metodología.	9
2.3. Parámetros de calidad a evaluar: métodos y equipos de medición.	10
2.4. Análisis estadístico.....	11
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
3.1. Contenido en humedad	12
3.2. Índice de peróxidos	14
3.3. Acidez oleica	17
3.4. Análisis estadístico.....	20
4. CONCLUSIONES	24
5. LIMITACIONES Y TRABAJOS FUTUROS	24
6. BIBLIOGRAFÍA	25

RESUMEN

La determinación de la vida útil de los alimentos es un elemento indispensable en el desarrollo de nuevos productos, en el uso de nuevos envases o cambios en la formulación, dada su importancia sobre la seguridad y calidad de los alimentos. Este trabajo tiene por objetivo determinar una metodología alternativa para estimar la vida útil del chocolate en la empresa EUROPRALINÉ S.L. mediante pruebas aceleradas, empleando como indicadores de deterioro la humedad, la acidez oleica y el índice de peróxidos. Los diferentes chocolates utilizados se almacenaron a 20°C, 25°C y 30°C, durante un total de 56, 42 y 10 días, realizando los muestreos cada 7, 3 y 1 día, respectivamente. Los resultados se compararon con los obtenidos del análisis de tabletas con diferente fecha de fabricación, almacenadas en óptimas condiciones. Los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos en el análisis estadístico de los diferentes parámetros son muy bajos, por lo que no se puede asegurar el ajuste a la curva obtenida en los diferentes chocolates y la repetibilidad en posteriores ensayos. Dichos resultados de los parámetros fisicoquímicos no se aproximan a los reportados en la literatura.

Palabras clave: chocolate, vida útil, pruebas aceleradas, calidad.

ABSTRACT

The determination of food shelf life is an indispensable element in the development of new products, in the use of new packaging or when it comes to changes in the formulation, given its importance on food safety and quality. The objective of this work is to determine an alternative methodology to estimate the shelf life of chocolate in the company EUROPRALINÉ S.L. by means of accelerated tests, employing moisture, oleic acidity and peroxide index as deterioration indicators. The different types of chocolates used were stored at 20°C, 25°C and 30°C during a total of 56, 42 and 10 days, carrying out the sampling every 7, 3 and 1 day, respectively. The results were compared with those obtained from the analysis of tablets with different manufacture dates, stored under optimum conditions. The correlation coefficients (R^2) obtained in the statistical analysis of the different parameters are very low, so the fit to the curve obtained for the different chocolates and the repeatability in subsequent tests cannot be assured. These results of the physicochemical parameters are not close to those reported in the literature.

Key words: chocolate, shelf life, accelerated testing, quality.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El chocolate

El chocolate es un producto de confitería obtenido de la mezcla de azúcar, cacao y manteca de cacao (Valenzuela, 2007). Actualmente, la industria fabrica tres tipos principales de chocolates macizos, es decir, chocolates compactos, sin relleno ni inclusiones de otros ingredientes:

- Chocolate negro es el producto obtenido a partir de productos de cacao y azúcares que contenga como mínimo 35% de materia seca total de cacao.
- Chocolate con leche es el producto obtenido a partir de productos de cacao, azúcares y leche o productos lácteos, y que contenga como mínimo, un 25% de materia seca total de cacao y un 14% de extracto seco de la leche.
- Chocolate blanco es el producto elaborado a partir de manteca de cacao, leche o productos lácteos y azúcares, con un mínimo de 20% de manteca de cacao y, al menos, un 14% de extracto seco de la leche.

Existen otros tipos de chocolates definidos en la legislación (Real Decreto 1055/2003) como “Gianduja” o “Gianduia”, los cuales contienen entre un 20 y 40% de frutos secos en su composición.

El estudio de la matriz del chocolate y sus mecanismos de deterioro son la base para la realización de investigaciones acerca de su vida útil. La naturaleza de los ingredientes es uno de los factores más influyentes en la calidad y en la vida útil del chocolate, por ello, las diferencias en los porcentajes de ingredientes utilizados en su elaboración influirán en sus alteraciones. La calidad final del chocolate también se verá afectada por todo el proceso de producción, así como por las condiciones en las que posteriormente es distribuido y almacenado (González Muñoz et al., 2012; Gutiérrez, 2017; Phimolsiripol y Suppakul, 2016).

1.1.1. Composición del chocolate

La composición nutricional del chocolate variará dependiendo del tipo de chocolate. En general, se trata de un alimento altamente energético que contiene alrededor del 60% de hidratos de carbono, un 30% corresponde con la fracción lipídica y un 6% proteínas.

La fracción lipídica tiene gran influencia sobre las propiedades organolépticas y la durabilidad del chocolate, siendo la principal responsable del deterioro oxidativo (Roda y Lambri, 2019; Suri y Basu, 2021; Torbica et al., 2016).

Las grasas del chocolate, procedentes de la manteca de cacao, presentan un elevado contenido en ácidos grasos saturados: 35% de ácido oleico, 35% de ácido esteárico y 25% de ácido palmítico (Beckett, 2008). El 5% restante lo forman diferentes ácidos grasos de cadena corta (Valenzuela, 2007). La manteca de cacao puede cristalizar en varias formas polimórficas, en general, la forma V es la más deseable en el chocolate dado que le aportará brillo, el chasquido característico y resistencia a la eflorescencia grasa (Gutiérrez, 2017). Los triglicéridos de la manteca de cacao son los responsables de aportarle un punto de fusión entre 27- 32°C, facilitando que se funda en el paladar humano.

La leche deshidratada añadida en la fabricación del chocolate con leche, además de aportar sabor y sensación agradable en boca, aporta alrededor de 5% de grasa láctea. Esta grasa, compuesta en su mayoría por triacilglicéridos, se oxida fácilmente, reduciendo así su vida útil (Afoakwa et al., 2007; Gutiérrez, 2017). En los chocolates blancos y en los turrone se añaden grasas lácteas anhidras cuyo principal deterioro también es la oxidación de los lípidos, dado que no son susceptibles al deterioro por microorganismos debido a su bajo contenido en humedad. Esta oxidación es medida mediante el índice de peróxidos (Beckett et al., 2017).

1.1.2. Características fisicoquímicas del chocolate

Algunas de las características intrínsecas del chocolate que determinan su calidad y vida útil son:

- Actividad del agua (a_w): es la cantidad de agua disponible en un alimento, directamente relacionada con la estabilidad microbiana. El chocolate presenta una a_w inferior a 0,6 (Callebaut, 2022; Ergun et al., 2010; Gutiérrez, 2017; Podolak et al., 2010), por lo que se le considera un alimento microbiológicamente seguro, además de por su alto contenido en azúcares y grasas (Olaimat et al., 2020; Podolak et al., 2010).

- Humedad: es uno de los indicadores más críticos que afectan a la calidad y a la vida útil de los alimentos. Se expresa en porcentaje. Los cambios en el contenido de agua pueden afectar tanto a las reacciones químicas como a las propiedades físicas del chocolate, disminuyendo la aceptabilidad del producto (Ergun et al., 2010). Una humedad baja está involucrada en las reacciones de pardeamiento enzimático (Wong et al., 2015). Las interacciones entre la grasa y la humedad causan cambios en el volumen ya que, debido a la estructura interna porosa, las partículas de cacao pueden absorber humedad, hincharse y favorecer la aparición de grietas, poros o la floración del azúcar (González Muñoz et al., 2012; Svanberg et al., 2012), así como reblandecimiento

y, en consecuencia, disminución del característico sonido al partirlo (Rossini et al., 2011). Es importante contar con una barrera adecuada que proteja al chocolate de las condiciones externas para evitar que exista un intercambio de humedad y aumentar así su vida útil.

- Acidez oleica o grado de acidez: es el contenido de ácidos grasos libres, expresados como porcentaje de ácido oleico. En el chocolate, los ácidos grasos provienen principalmente de la pasta y de la manteca de cacao, las cuales no pueden tener una acidez oleica mayor de 1,75% (Real Decreto 1055/2003). La causa principal del aumento de la acidez oleica es el enranciamiento de las grasas debido a un almacenamiento a temperaturas elevadas o durante largos periodos. Esta oxidación va ligada a cambios en el color y sabor del chocolate (Rossini et al., 2011).

- Peróxidos: con este índice se detectan las primeras etapas de deterioro del chocolate al ser los productos primarios de la oxidación de las grasas. Se expresa en miliequivalentes por kilo (meq O₂/ Kg). Este índice es representativo del agotamiento de la calidad durante la vida útil del producto y se puede establecer su dependencia con la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius (Calligaris et al., 2007, 2008). Los peróxidos son insípidos, sin embargo, pueden degradarse produciendo sabores desagradables (Gutiérrez, 2017).

- pH: determina el grado de acidez o alcalinidad de un alimento. En general, el pH del chocolate es aproximadamente 6, aunque puede verse incrementado si el cacao sufre un proceso de alcalinización, produciendo cambios en el color, aroma y sabor (Durá Esteve et al., 2016; González Muñoz et al., 2012; Gutiérrez, 2017). Los cambios en el pH del chocolate están relacionados con el aumento de la acidez.

1.1.3. Alteraciones del chocolate

El chocolate se considera un alimento microbiológicamente estable por lo que el Reglamento (CE) No 1441/2007 no establece criterios microbiológicos para este producto. La presencia de Salmonella sería el principal riesgo microbiológico conocido, como así lo exponen los recientes brotes detectados en la industria del chocolate (Gutiérrez, 2017; Olaimat et al., 2020) aunque en la actualidad no está contemplado en la legislación.

Los atributos sensoriales del chocolate como textura y color característicos, superficie brillante, tacto firme con resistencia mínima al partirlo y crujencia, fundición en boca o ausencia de manchas blanquecinas, olores y sabores extraños, así como ciertos parámetros fisicoquímicos, son algunos de los criterios que determinan la calidad del chocolate. La temperatura, la humedad relativa, la luz, los olores o el envase son

algunos de los factores externos que más influyen en su deterioro (Alapont Gutiérrez et al., 2020; Daza La Plata et al., 2020; González Muñoz et al., 2012; Phimolsiripol y Suppakul, 2016).

Las principales reacciones que ocurren en el chocolate durante su almacenamiento son las reacciones de Maillard y la oxidación de las grasas, afectando a las características fisicoquímicas y organolépticas (Giannakourou et al., 2021) por lo que las alteraciones más importantes están relacionadas con cambios en el aspecto, color, olor, sabor y/o textura.

El color de los alimentos es una de las cualidades que más influye en la aceptación de estos por parte del consumidor. Las reacciones de Maillard originadas entre los azúcares y las proteínas son las responsables de los cambios de color en el chocolate. Los **cambios en el color y la pérdida de brillo** del chocolate se ven intensificados por temperaturas más altas de almacenamiento (Pastor et al., 2007). En el chocolate blanco, el desarrollo de colores marrones es uno de los principales problemas que limitan su vida útil, siendo la temperatura y el aumento de la actividad del agua los factores principales que determinan estas reacciones de pardeamiento (Giannakourou et al., 2021; Rossini et al., 2011; Vercet, 2003; Wong et al., 2015). Estas reacciones producen agua, lo que podría aumentar el contenido de humedad, afectando de forma negativa a la textura del chocolate. El cambio a gris en el color del chocolate negro y con leche se debe a la floración o bloom del chocolate, tanto de las grasas como del azúcar, siendo una de las principales causas de pérdida de calidad en esta industria, dado que influye en el color y en la textura (Beckett et al., 2017; Ghosh et al., 2002; González Muñoz et al., 2012; Nightingale et al., 2011), pero no en su seguridad para ser consumido.

Fat bloom o eflorescencia grasa es la acumulación visible de cristales de grasa en la superficie de los productos de chocolate debido a una separación de fases y un polimorfismo en las cadenas de ácidos grasos. Los lípidos con mayor probabilidad de migrar a la superficie son aquellos que tienen un punto de fusión más bajo y mayor fluidez (Ali et al., 2001). La causa principal de esta alteración es su almacenamiento a altas temperaturas, superiores a 20°C, o con oscilaciones, haciendo que la manteca de cacao migre hacia la superficie y recristalice dando lugar a una apariencia blanquecina-grisácea y grasienta (Engeseth y Ac Pangan, 2018; Ghosh et al., 2002; González Muñoz et al., 2012; Montoya Buitrago, 2003). Esta alteración trae como consecuencia la pérdida de brillo en la superficie del chocolate (Pastor et al., 2007) y la disminución de la fusión en boca debido al aumento del punto de fusión de los ácidos grasos por la transición polimórfica (Engeseth y Ac Pangan, 2018).

El proceso de producción, principalmente el templado, también tiene gran importancia en su aparición ya que, en estas etapas, es donde se producirá la cristalización que determinará los parámetros de calidad del chocolate final (buen color, brillo, fusión en boca y mayor vida útil) (Afoakwa et al., 2007; Gutiérrez, 2017; Pirouzian et al., 2020; Rothkopf, 2017; Torbica et al., 2016). La inclusión de otros ingredientes con alto contenido en grasa, como los frutos secos, también favorece su aparición (González Muñoz et al., 2012; Rothkopf, 2017). Por otro lado, la grasa de la leche ayuda a retrasar la floración de la grasa debido al efecto eutéctico que causa (Afoakwa et al., 2007; Beckett et al., 2017), al igual que los emulsionantes (Badui Dergal, 2006), siendo más habitual ver esta alteración en chocolates con alto contenido en cacao.

Sugar bloom o floración del azúcar, tiene lugar cuando la humedad se condensa en la superficie del chocolate como resultado de la diferencia de temperaturas, haciendo que los cristales de azúcar migren a la superficie (Ghosh et al., 2002), dando lugar a la aparición de manchas blancas, con apariencia similar a la floración de la grasa, pero dotando al producto de textura arenosa y una sensación áspera y granulosa en la boca. Este cambio físico puede atribuirse a fenómenos de transición vítrea, los cuales afectan a la estabilidad y calidad de los alimentos, basados en cambios de estado sólido a gomoso (Giannakourou et al., 2021).

Los **cambios en el olor y sabor** del chocolate son la principal causa de su deterioro. Esta alteración es ocasionada por la oxidación de los ácidos grasos durante el almacenamiento (Maskan et al., 1993), debido a la formación de hidroperóxidos que aportan olor y sabor desagradables y, como consecuencia, disminución de la calidad nutricional, la seguridad y la vida útil del alimento (Calligaris et al., 2016; Rodríguez Gómez, 2010). La tasa de oxidación lipídica durante el almacenamiento depende de las características intrínsecas, del envasado y de los factores ambientales (oxígeno, temperatura, humedad y luz) (Barden y Decker, 2016; Calligaris et al., 2007; Evranuz, 1993; Gumus et al., 2021). Los alimentos que contienen altos niveles de ácidos grasos insaturados se oxidan y se vuelven rancios fácilmente (Calligaris et al., 2016; Hřivna et al., 2021; Rossini et al., 2011). También puede aparecer con mayor rapidez en productos con alto contenido en grasa, rellenos de producto alto en grasas o aquellos que llevan frutos secos añadidos (Stauffer, 2007).

1.2. Vida útil de los alimentos

La vida útil de un alimento es el periodo en el cual los alimentos conservan sus propiedades fisicoquímicas, organolépticas y sensoriales, es decir, su calidad (Alapont

Gutiérrez et al., 2020), y son inocuos para el consumidor. Se puede decir que un producto ha llegado al final de su vida útil en el momento en el que alguna de sus propiedades se considera inaceptable.

Los estudios de vida útil acelerada o Accelerated Shelf- Life Testing (ASLT) son una de las metodologías más utilizadas para predecir la vida útil de un alimento no perecedero, particularmente de aquellos estables a temperatura ambiente como los productos de confitería (Subramaniam, 2009). Los alimentos se someten a condiciones desfavorables de almacenamiento, generalmente de abuso de temperatura y humedad, acelerando así las reacciones de deterioro y obteniéndose resultados en periodos de tiempo más cortos.

La temperatura es el factor externo que más influye en las reacciones de deterioro de los alimentos (Barden y Decker, 2016), tanto físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales. La selección de temperaturas es un punto muy importante dado que dependerá del producto para evitar que ocurran cambios que no ocurrirían en condiciones de almacenamiento normales, por ello, deben elegirse en función de la estabilidad del producto, las condiciones climáticas típicas y de almacenamiento. La ecuación de Arrhenius es el modelo predictivo más utilizado para describir su efecto (Giannakourou et al., 2021). Midiendo la velocidad de los cambios en al menos tres temperaturas diferentes, la velocidad de reacción a una temperatura deseada se puede extrapolar mediante la aplicación de la ecuación de Arrhenius para la determinación de la vida útil (Nuñez de Villavicencio et al., 2017).

Para monitorizar la oxidación lipídica o el enranciamiento durante la vida útil se pueden utilizar como indicadores la acidez oleica y los peróxidos (Barden y Decker, 2016), aunque el final de la vida útil se determinará cuando los volátiles generados puedan ser detectados por el consumidor. En estudios de vida útil acelerada de alimentos con alto contenido en grasas, estos índices de oxidación aumentaron pudiendo ser extrapolados a condiciones normales de almacenamiento (Calligaris et al., 2007, 2008, 2016). Es importante tener en cuenta, que las constantes de velocidad determinadas bajo temperaturas cíclicas, difieren de las determinadas bajo temperaturas constantes (Barden y Decker, 2016).

Existe en la literatura diferentes estudios que determinan la vida útil de alimentos mediante pruebas aceleradas: Un estudio realizado sobre la estimación de la vida útil de mayonesa mediante pruebas aceleradas por temperatura (García Baldizón y Molina Córdoba, 2008), realizó el ensayo almacenando el producto a 21°C, 35°C y 45°C,

durante 210, 90 y 43 días, respectivamente, y empleó el índice de peróxidos como indicador de deterioro al tratarse de un alimento graso, cuyas reacciones de oxidación siguen un comportamiento de orden cero.

Chica Cardona y Osorio Saldarriaga (2003) estudiaron la durabilidad del chocolate de mesa sin azúcar, empacado en una película de polipropileno biorientado a diferentes condiciones de almacenamiento (20°C y 25°C, y 80% y 90% de humedad relativa) durante tres meses. Determinaron los parámetros cinéticos y, por medio del modelo de Arrhenius, se halló el tiempo de vida útil del chocolate, demostrando que se trata de un producto duradero. Castillo Golles y Silva Sánchez (2015), con el objetivo de determinar la vida de anaquel del chocolate de taza mediante pruebas aceleradas y utilizando dos tipos de empaques, sometieron al producto a 20, 25 y 30°C a 80% de humedad relativa, realizando pruebas fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas durante el tiempo de almacenamiento. Barboza y Yoelinson (2016) realizaron un estudio para la estimación de la vida útil de una bebida achocolatada mediante pruebas aceleradas por temperatura, siguiendo también el modelo de Arrhenius. La muestra se almacenó a 8°C y 14°C y se evaluó periódicamente mediante pruebas de análisis sensorial, así como pruebas fisicoquímicas (pH, densidad y ° brix) para establecer el momento en el que el alimento es rechazado. Un artículo más reciente, Hidayati et al. (2022), estudia la estimación de la vida útil en chocolate instantáneo mediante pruebas de vida útil acelerada con la ecuación de Arrhenius. Se almacenó el chocolate instantáneo a 30°C, 40°C y 50°C en envases de plástico de polipropileno durante 42 días en condiciones de vacío, detectándose cambios en el contenido de agua, ácidos grasos libres, sabor, aglutinamiento y número microbiano total.

Diferentes estudios han evaluado la formación del fat bloom en el chocolate aplicando generalmente tres rangos aproximados de temperaturas (bajo (18- 20°C), medio (21- 25°C) y alto (28-32°C)), concluyendo que las altas temperaturas aceleran la floración de las grasas a la superficie (Ali et al., 2001; Ghosh et al., 2002; Montoya Buitrago, 2003; Zhao y James, 2019). La utilización de temperaturas cíclicas de almacenamiento genera la aparición de la eflorescencia grasa de forma acelerada, debido a que el incremento de temperatura favorece una mayor fase líquida de la manteca de cacao que tiende a subir a la superficie. Stauffer (2007) establece una relación general: una semana de temperaturas cíclicas es igual a un mes de vida útil.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las instalaciones de la fábrica de chocolates TRAPA, perteneciente al grupo EUROPRALINÉ S.L., (Dueñas, Palencia, España) y se utilizaron chocolates elaborados y envasados por dicha empresa.

2.1. Descripción del producto

Los chocolates utilizados para el estudio se resumen en la tabla 1. El envase de todos los productos es en flow pack de polipropileno; aquellos comercializados por la marca TRAPA cuentan también con un estuche de cartón.

Tabla 1: Chocolates utilizados en el estudio de vida útil.

Tipo de chocolate	Marca comercial	Ingredientes
Chocolate con leche	DÍA	Azúcar, manteca de cacao, leche entera en polvo, pasta de cacao, lactosuero en polvo, emulgente (lecitinas), aroma. Cacao: 29% mínimo.
Chocolate negro 80%	TRAPA	Pasta de cacao, azúcar, cacao desgrasado en polvo, manteca de cacao, emulgente (lecitina de soja) y aroma. Cacao: 80% mínimo.
Chocolate con leche y almendras	TRAPA	Azúcar, almendra (20%), manteca de cacao, leche en polvo, pasta de cacao, suero de leche en polvo, emulgente (lecitina de soja) y aroma. Cacao: 29% mínimo.
Chocolate con leche y avellanas	TRAPA	Azúcar, avellana (20%), manteca de cacao, leche en polvo, pasta de cacao, suero de leche en polvo, emulgente (lecitina de soja) y aroma. Cacao: 29% mínimo.
Chocolate blanco	EROSKI	Azúcar, manteca de cacao, leche en polvo, mantequilla, emulgente (lecitina de soja), aroma. Cacao: 26% mínimo.
Turrón blanco crujiente	DÍA	Azúcar, leche en polvo, manteca de cacao, arroz extrusionado (harina de arroz, harina de maíz, sal) (14%), pasta de avellana, suero de leche en polvo, mantequilla, emulgente (lecitina de soja), aroma.

2.2. Diseño experimental. Metodología.

La temperatura fue la variable que se utilizó para acelerar las reacciones de degradación del chocolate. Se tomaron muestras del mismo lote de producción de cada producto para el estudio y se almacenaron a tres temperaturas diferentes: $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Previo al almacenamiento de las muestras de chocolate, se realizó una programación de los análisis fisicoquímicos teniendo en cuenta los días no laborables o los días de

ajuste de la empresa. La realización de los análisis fisicoquímicos de las muestras de chocolate se llevó a cabo siguiendo la periodicidad que se presenta en la tabla 2. La duración máxima del estudio se estableció en 56 días para la temperatura de 20°C, 42 días para 25°C y 10 días para 30°C. El tiempo más corto de almacenamiento (10 días) corresponde a la mayor temperatura utilizada en el estudio. La definición del periodo de medición se estableció en pruebas previas.

Para cada tipo de chocolate estudiado se toman como control o referencia tabletas del mismo chocolate con diferentes fechas de fabricación, almacenadas en la muestroteca de la fábrica en óptimas condiciones (T^a 16- 18°C).

Tabla 2: Secuencia de muestreo para el análisis de los chocolates.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Período de medición (días)	Tiempo máximo de almacenamiento (días)	Muestreo (días)
20	7	56	7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56
25	3	42	3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42
30	1	10	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10

2.3. Parámetros de calidad a evaluar: métodos y equipos de medición.

La oxidación es la alteración más común que conduce al final de la vida útil de los alimentos microbiológicamente estables y con elevado contenido en grasa. Para evaluar el grado de rancidez oxidativa de los chocolates y su evolución almacenado a diferentes temperaturas se analiza el índice de acidez oleica (AO) y el índice de peróxidos (IP), ambos indicadores de deterioro oxidativo de las grasas. También se analiza la humedad del chocolate.

En este estudio no se realiza el análisis microbiológico del chocolate dado que los productos ya tenían asegurada su vida útil en relación a los criterios establecidos en el Reglamento (CE) 1441/2007, superando los 720 y 540 días para los chocolates macizos y los chocolates con inclusiones, respectivamente.

2.3.1. Preparación de las muestras y extracción de la grasa del chocolate

Las muestras de chocolate se atemperaron durante mínimo 1 hora a temperatura ambiente (21°C) antes de comenzar los análisis fisicoquímicos, posteriormente, las tabletas fueron fundidas en una estufa a 45°C durante 1 hora.

Para la extracción de la grasa del chocolate, se diluyen 12 g de chocolate fundido en éter de petróleo y se centrifuga durante 15 minutos. Para una mayor extracción, se

vuelve a centrifugar el residuo de la muestra después de separar el sobrenadante. El disolvente se evapora en estufa de secado a 100°C durante hora y media, hasta no apreciar aroma a éter. El residuo oleoso es la grasa resultante objeto de la extracción.

2.3.2. Análisis fisicoquímicos

Todas las determinaciones se realizaron siguiendo las Instrucciones Técnicas de Trabajo (ITT) de la empresa. En la tabla 3 se muestran los límites máximos establecidos para cada parámetro en las fichas técnicas de los productos.

➤ *Determinación del porcentaje de humedad*

El contenido de humedad del chocolate se determinó utilizando una termobalanza COBOS MOC- 63U (Barcelona, España), método gravimétrico (Codex Alimentarius, 1981).

➤ *Determinación del índice de peróxidos*

Para la determinación del índice de peróxidos de la grasa del chocolate se utilizó un fotómetro portátil HI83730 y el kit de reactivos HI83730-20, ambos de la marca Hanna Instruments (Guipuzkoa, España), adaptación del método EC 2568/91 para medir valores de peróxido menores a 25.0 meq O₂/ kg, siguiendo las instrucciones que marca el fabricante. El fotómetro muestra directamente el valor peróxido en meq O₂/ Kg.

➤ *Determinación de la acidez oleica*

La determinación de la acidez oleica de la grasa se mide por titulación (Codex Alimentarius, 1999), mediante una reacción de neutralización de los ácidos con una base fuerte (NaOH 0,1 N).

Tabla 3: Límites máximos para los parámetros fisicoquímicos establecidos por la empresa chocolatera.

Índice de peróxidos (meq O ₂ /Kg)	Índice de acidez (%)	Humedad (%)
10	1,75	5,0

2.4. Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el software Statgraphics Centurion 18 y los datos se procesaron con el software Microsoft Excel, ambos para el sistema operativo Windows. El método aplicado fue regresión simple con comparación de modelos alternos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Contenido en humedad

El gráfico 1 muestra los valores de humedad de los chocolates almacenados en óptimas condiciones en función del tiempo. Este parámetro aumenta con el paso del tiempo pero lo hace de forma diferente en cada chocolate, siendo el aumento menor en los chocolates con mayor porcentaje de cacao y mayor contenido en grasas lácteas como el chocolate blanco y el turrón blanco crujiente. Este aumento de la humedad depende del número de partículas hidrofílicas presentes en el chocolate, menor cuanto mayor es el contenido de grasa del alimento (Ghosh et al., 2002). Por otro lado, el embalaje preserva al chocolate del medio y la permeabilidad a las moléculas de agua dependerá de los diferentes materiales utilizados en cada uno de ellos. El polipropileno es un material de embalaje utilizado comúnmente para los productos de confitería y su permeabilidad depende en gran medida del espesor de la película (Ergun et al., 2010).

Los valores de humedad de los chocolates almacenados en óptimas condiciones de temperatura (controles) no superan el límite máximo establecido, incluso aquellos con una duración superior a la fecha de consumo preferente actualmente establecida.

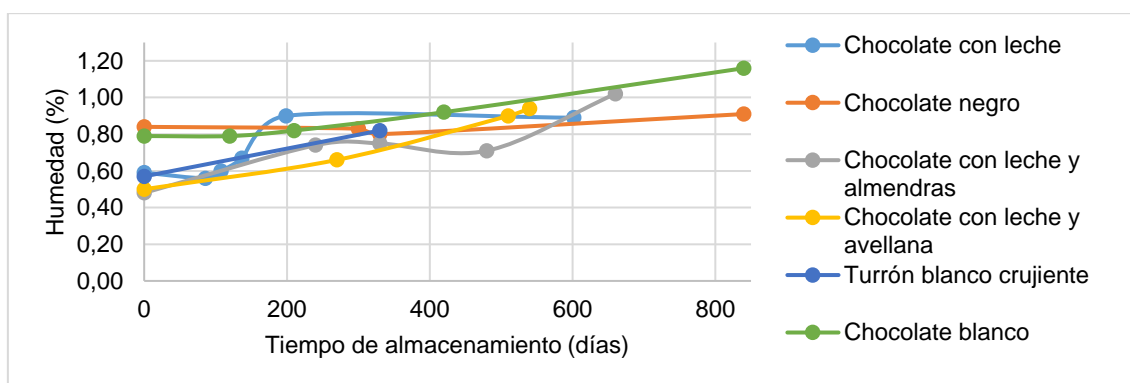


Gráfico 1: Humedad en función del tiempo en los chocolates almacenados en óptimas condiciones.

Los gráficos 2- 7 muestran los porcentajes de humedad de los chocolates almacenados en condiciones de abuso de temperatura y del chocolate control en función del tiempo de almacenamiento. Los resultados obtenidos son muy dispares y no siguen ninguna línea de tendencia. La curva de humedad obtenida en cada chocolate almacenado a las diferentes temperaturas tampoco se asemeja a la curva obtenida en su respectivo chocolate control.

Los chocolates almacenados a 25° C y 30°C reflejan en la gráfica más subidas y bajadas que en los almacenados a 20°C. A excepción del chocolate negro almacenado a 25°C,

ninguna muestra de ningún chocolate ha superado el límite máximo de humedad alcanzado en los chocolates control. Este aumento de humedad en el chocolate negro ha sido superior al 22% frente al aumento del 8% en el chocolate negro control.

Chica Cardona y Osorio Saldarriaga (2003), reportó un leve incremento de la humedad del chocolate en los primeros 60 días y, posteriormente, un incremento mayor de acuerdo a las condiciones de almacenamiento (temperatura y porcentaje de humedad relativa), concluyendo que, a mayor humedad relativa del ambiente mayor es la humedad del chocolate y, a mayor temperatura menor es la humedad del chocolate.

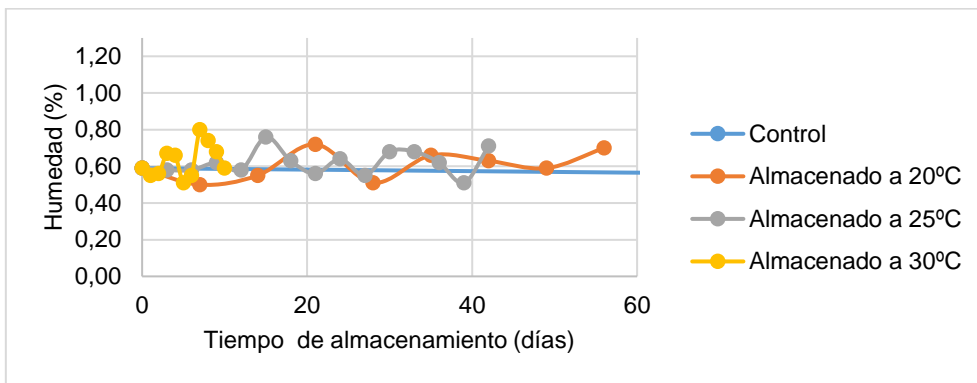


Gráfico 2: Evolución de la humedad en el chocolate con leche.

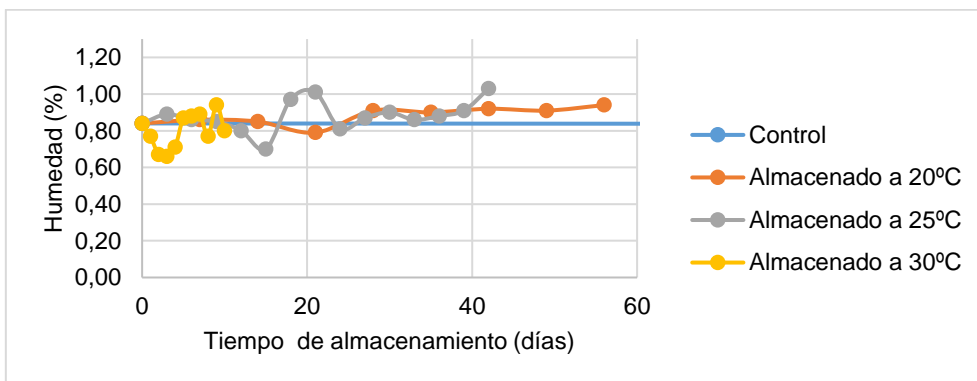


Gráfico 3: Evolución de la humedad en el chocolate negro.

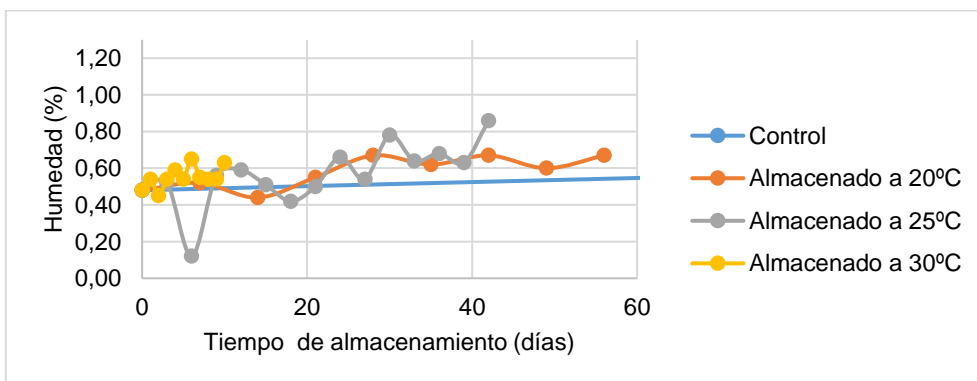


Gráfico 4: Evolución de la humedad en el chocolate con leche y almendras.

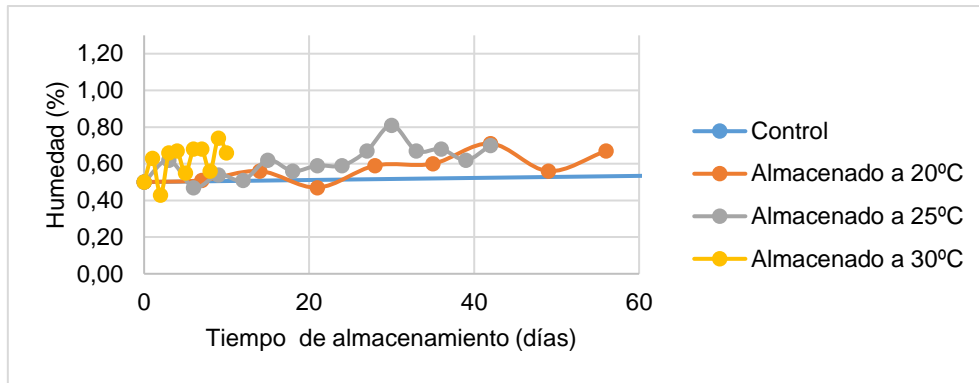


Gráfico 5: Evolución de la humedad en el chocolate con leche y avellanas.

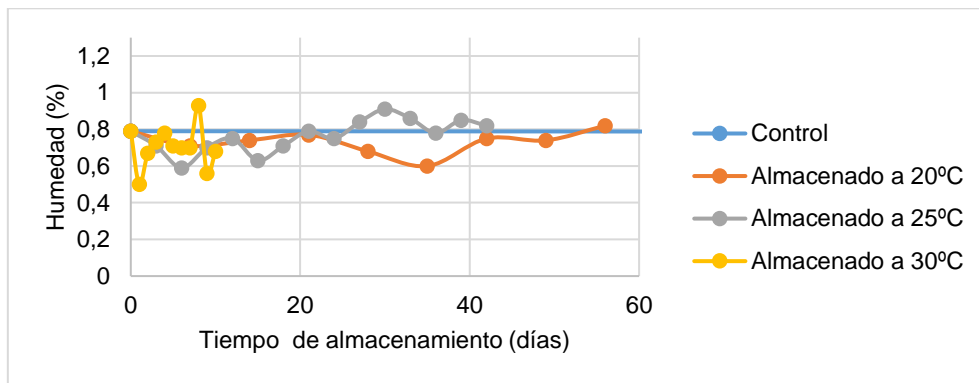


Gráfico 6: Evolución de la humedad en el chocolate blanco.

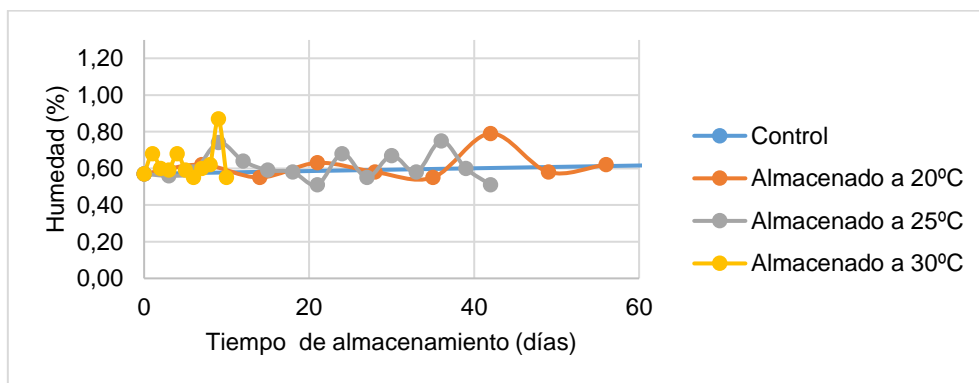


Gráfico 7: Evolución de la humedad en el turrón blanco crujiente.

3.2. Índice de peróxidos

Los valores del índice de peróxidos que toman los chocolates control en función del tiempo se pueden ver en el gráfico 8, a excepción del chocolate negro. En el chocolate negro este parámetro no fue analizado dado que la grasa de dicho chocolate es muy oscura y el instrumento de medición no detecta el cambio de color al añadir los reactivos.

Se observa que las curvas de los chocolates control (con leche, chocolate con leche y almendras y turrón blanco) tienen una forma muy similar a la obtenida en los porcentajes

de humedad (Gráfico 1). Entorno al día 300 de almacenamiento, todos los chocolates presentan un valor cercano a 10 meq O₂/ Kg (límite máximo), aunque el chocolate con leche y el chocolate blanco alcanzan este valor antes.

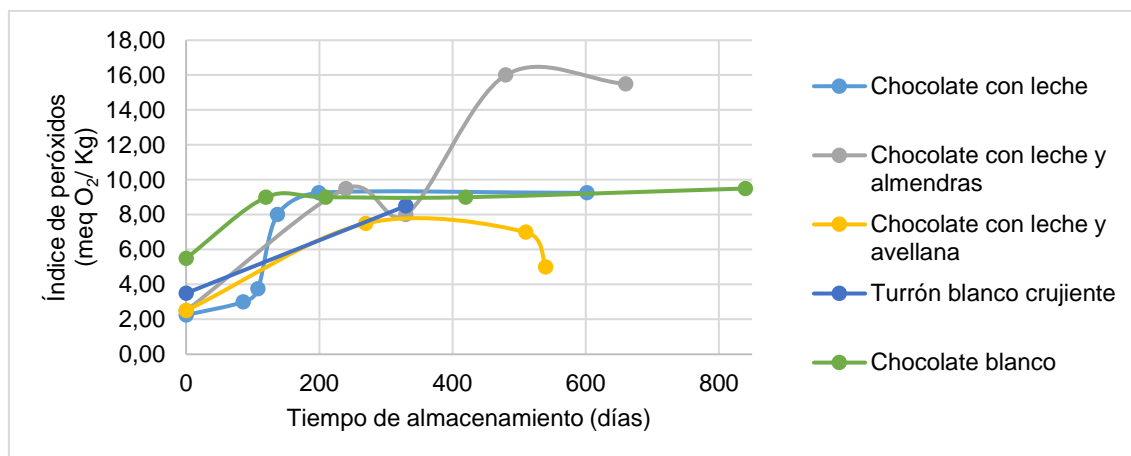


Gráfico 8: Índice de peróxidos en función del tiempo en los chocolates almacenados en óptimas condiciones.

Los valores de peróxidos de los chocolates sometidos a abuso de temperaturas, así como el chocolate control correspondiente, se ven reflejados en los gráficos 9-13. El aumento del índice de peróxidos, al igual que en la humedad no es lineal y presenta grades fluctuaciones de valores. Existe una subida de este índice con respecto al valor inicial pero, en cualquier caso, no llega a acercarse a los valores más altos obtenidos en los chocolates control, a excepción del chocolate blanco y del turrón blanco crujiente, almacenados a 30°C, que sí que alcanzan dichos valores. El chocolate blanco almacenado a 30°C es el único que supera el límite máximo establecido.

Este comportamiento del índice de peróxidos del chocolate no se asemeja al observado en otros estudios donde existe un aumento con respecto del tiempo y su comportamiento es lineal. Además, el incremento del índice de peróxidos es mayor a medida que aumenta la temperatura de almacenamiento (García Baldizón y Molina Córdoba, 2008, Guzmán Carrillo et al., 2016, Shafiei et al., 2020). Según Barrionuevo García (2016), la cinética del proceso de oxidación se ajusta a una reacción de orden pseudo-cero, donde la velocidad de reacción no depende de la concentración. En cambio, en el ensayo realizado por Chica Cardona y Osorio Saldarriaga (2003), el índice de peróxidos tampoco presentó cambios significativos sometiendo al chocolate de mesa a diferentes condiciones de almacenamiento, tampoco lo hizo en el estudio realizado por Castillo Golles y Silva Sánchez (2015).

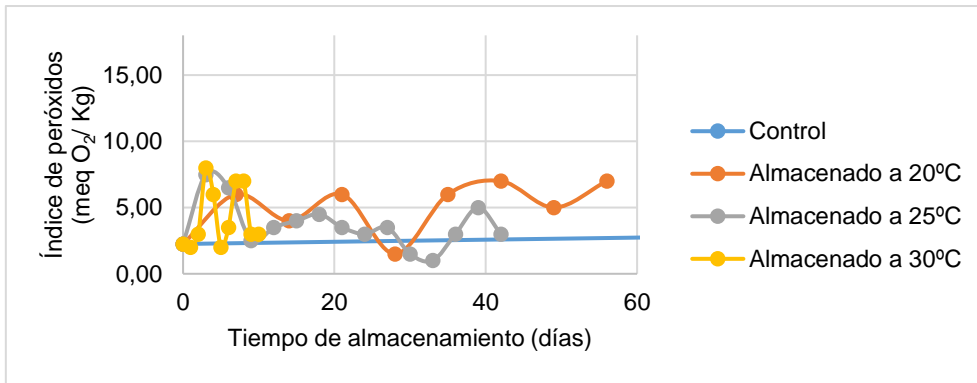


Gráfico 9: Evolución del índice de peróxidos en el chocolate con leche.

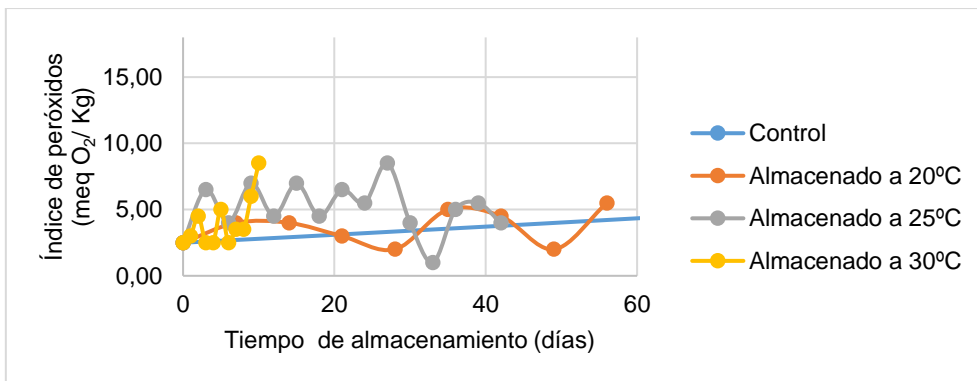


Gráfico 10: Evolución del índice de peróxidos en el chocolate con leche y almendras.

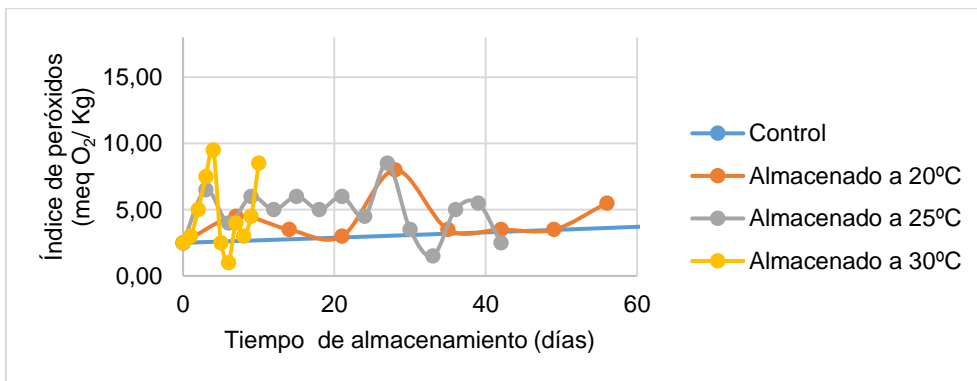


Gráfico 11: Evolución del índice de peróxidos en el chocolate con leche y avellanas.

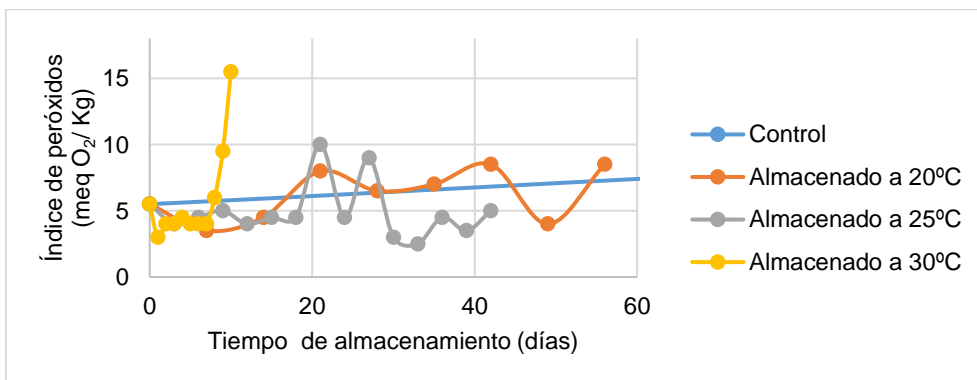


Gráfico 12: Evolución del índice de peróxidos en el chocolate blanco.

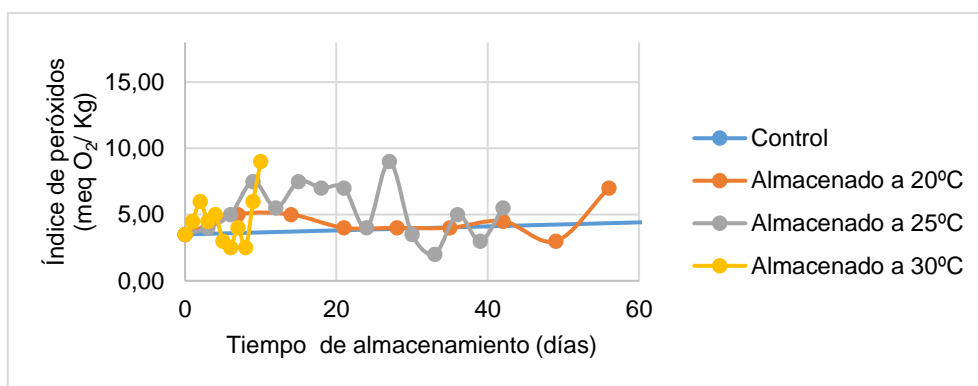


Gráfico 13: Evolución del índice de peróxidos en el turrón blanco crujiente.

3.3. Acidez oleica

El gráfico 14 muestra los valores de acidez oleica de los chocolates control. Los valores iniciales más altos de acidez oleica se corresponden con el chocolate que mayor porcentaje de cacao presenta (chocolate negro). A medida que disminuye el porcentaje de cacao en los chocolates también lo hace la acidez oleica, siendo los valores iniciales más bajos los correspondientes al chocolate blanco y al turrón blanco crujiente.

Los mayores aumentos de acidez oleica se corresponden con los chocolates con leche, negro y blanco, siendo este aumento de 39, 44 y 41%, respectivamente. A excepción del chocolate negro, y fuera de su fecha de consumo preferente, ningún chocolate supera el límite máximo establecido para el porcentaje de acidez oleica.

Los gráficos 15- 20 representan los datos obtenidos de los chocolates almacenados a 20, 25 y 30°C. Los resultados del análisis de la acidez oleica han sido muy variables, por lo que las curvas tienen muchos picos y no siguen una línea de tendencia, al igual que ha ocurrido en los otros dos parámetros analizados, ni tampoco se parece a la curva obtenida en los chocolates control. En muchos chocolates los valores obtenidos se encuentran por debajo de los obtenidos en los chocolates control.

En algunos chocolates como el chocolate con leche a 30°C, chocolate con leche y almendras a 20°C, turrón blanco crujiente a 25°C y 30°C y chocolate blanco a 20°C y a 30°C, los valores finales obtenidos superan al valor máximo del su respectivo chocolate control.

Según Barrionuevo García (2016), la evolución del grado de acidez con respecto al tiempo se ajusta a una reacción de orden pseudocero. Los coeficientes de regresión obtenidos para la acidez del aceite a las diferentes temperaturas son superiores a 0,8, muy diferentes a los obtenidos en el presente estudio. Rondón et al. (2016), también

reportan un aumento de la acidez frente al tiempo en la mayonesa almacenada a 35°C, 45°C y 55°C. Roda y Lambri (2019) exponen una reducción de la acidez en las primeras dieciocho semanas de almacenamiento del chocolate a 21°C, seguido de un rápido aumento después de la semana 36.

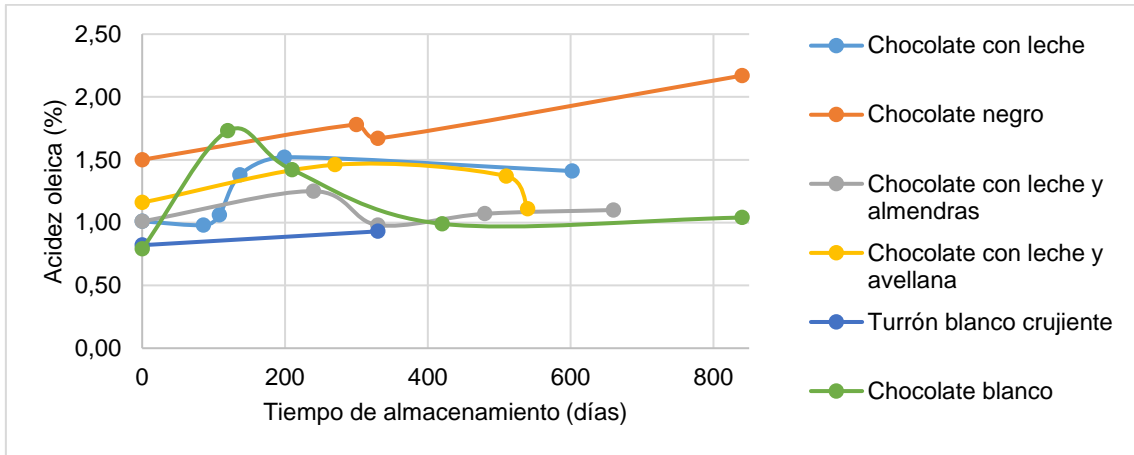


Gráfico 14: Acidez oleica en función del tiempo en los chocolates almacenados en óptimas condiciones.

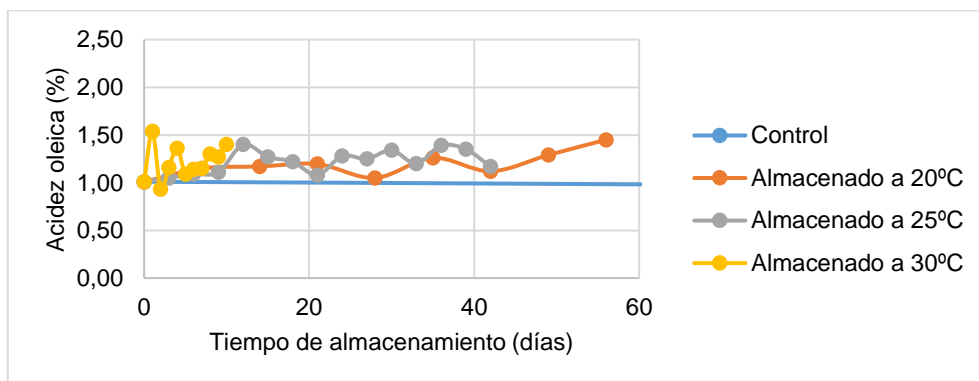


Gráfico 15: Evolución del índice de acidez oleica en el chocolate con leche.

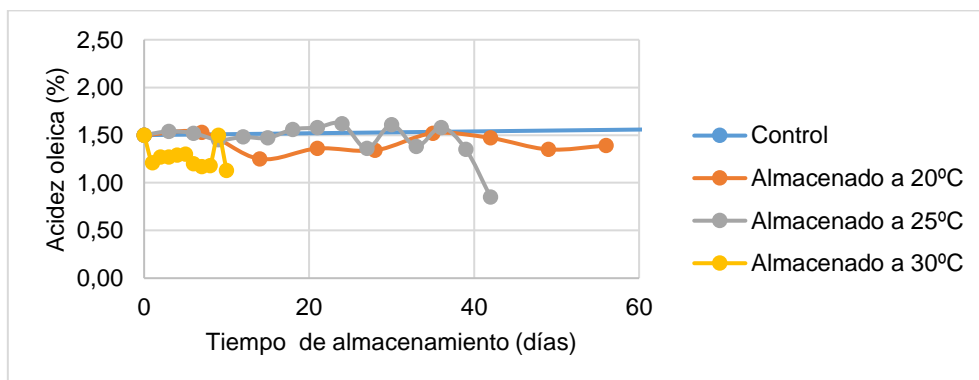


Gráfico 16: Evolución del índice de acidez oleica en el chocolate negro.

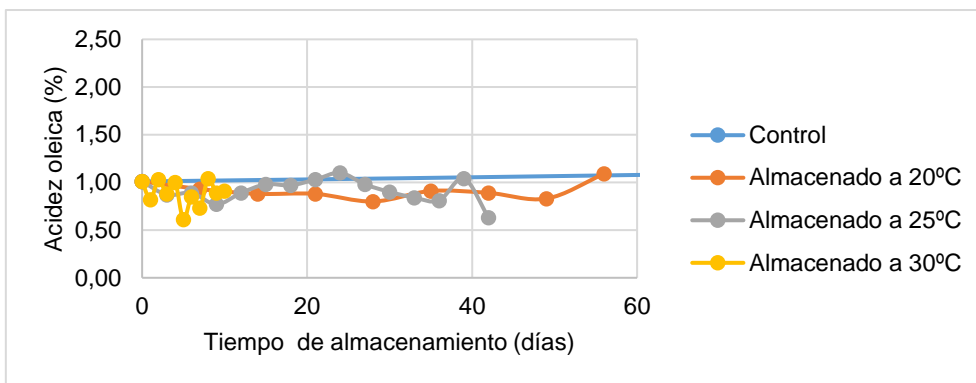


Gráfico 17: Evolución del índice de acidez oleica en el chocolate con leche y almendras.

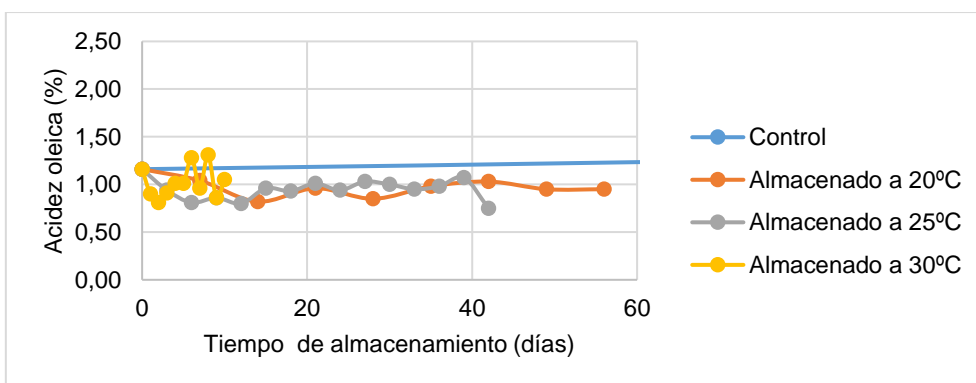


Gráfico 18: Evolución del índice de acidez oleica en el chocolate con leche y avellanas.

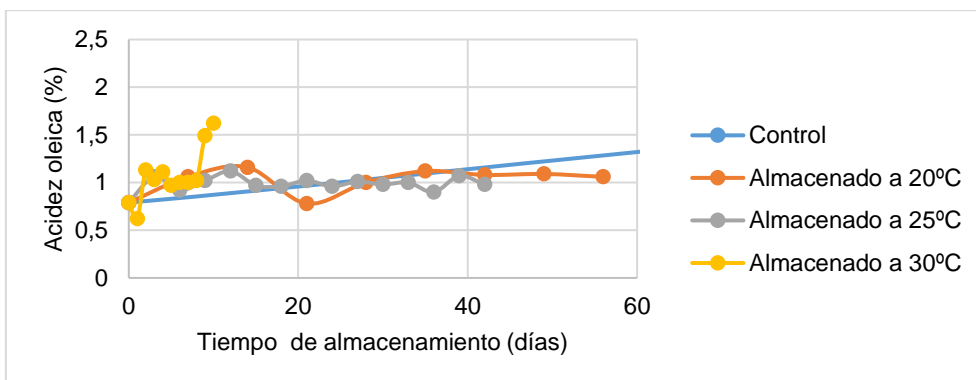


Gráfico 19: Evolución del índice de acidez oleica en el chocolate blanco.

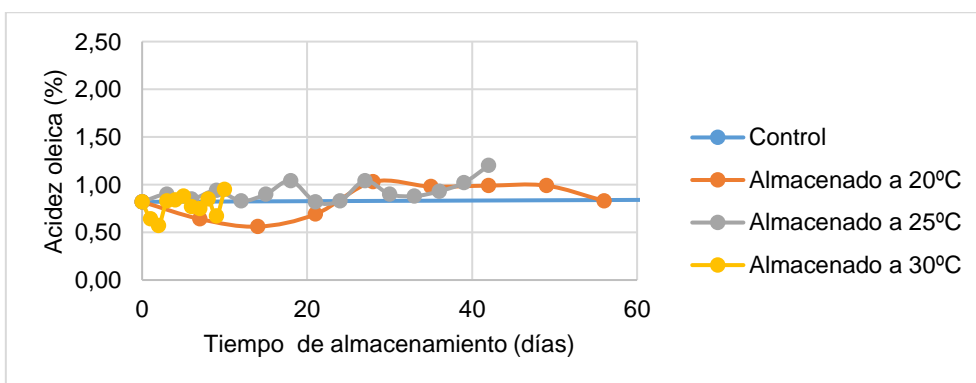


Gráfico 20: Evolución del índice de acidez oleica en el turrón blanco crujiente.

3.4. Análisis estadístico

En este trabajo se pretendía comparar los valores y curvas obtenidos de los parámetros estudiados (humedad, peróxidos y acidez oleica) de los diferentes chocolates almacenados en óptimas condiciones de temperatura con los chocolates almacenados a diferentes temperaturas, con el objetivo de obtener una aceleración en el tiempo de su deterioro y, posteriormente, calcular la vida útil del chocolate mediante la determinación de la constante de velocidad (k).

Para la elección del modelo matemático de ajuste de las curvas obtenidas, se ha realizado una comparación entre modelos, eligiendo aquel que mayor valor del coeficiente de determinación (R^2) presentaba para cada uno de los parámetros analizados en los chocolates almacenados a temperatura óptima (Tabla 4, 5 y 6).

Tabla 4: Valores de R^2 obtenidos del ajuste de los porcentajes de humedad de los chocolates almacenados a temperatura óptima a diferentes modelos matemáticos.

	Lineal	Raíz cuadrada doble	Logarítmico-Y Raíz Cuadrada-X	Cuadrado doble	Inversa de Y
Chocolate con leche	0,5851	0,5859	0,5858	0,4492	0,5756
Chocolate negro	0,5248	0,2262	0,22	0,7852	0,4917
Chocolate con leche y almendras	0,8287	0,8302	0,865	0,8111	0,8122
Chocolate con leche y avellanas	0,9813	0,9044	0,9258	0,9981	0,9997
Chocolate blanco	0,9633	0,7624	0,7732	0,9952	0,9774
Turrón blanco crujiente	1	1	1	1	1

Tabla 5: Valores de R^2 obtenidos del ajuste de los índices de peróxidos de los chocolates almacenados a temperatura óptima a diferentes modelos matemáticos.

	Lineal	Logarítmico-Y Raíz Cuadrada-X	Raíz cuadrado de Y	Cuadrado doble	Inversa de Y
Chocolate con leche	0,3593	0,4781	0,3649	0,1997	0,3779
Chocolate negro	0,9602	0,8604	0,9603	0,9365	0,9521
Chocolate con leche y almendras	0,0149	0,0599	0,018	0,0004	0,0287
Chocolate con leche y avellanas	0,0055	0,0586	0,0052	0,0197	0,0041
Chocolate blanco	0,0432	0,015	0,0287	0,1098	0,0011
Turrón blanco crujiente	1	1	1	1	1

Tabla 6: Valores de R^2 obtenidos del ajuste de los porcentajes de acidez oleica de los chocolates almacenados a temperatura óptima a diferentes modelos matemáticos.

	Lineal	Logarítmico- Y Raíz Cuadrada-X	Raíz cuadrado de Y	Cuadrado doble	Inversa de Y
Chocolate con leche Chocolate negro	0,507	0,671	0,4958	0,3604	0,4498
Chocolate con leche y almendras	0,8701	0,9455	0,8686	0,7507	SIN AJUSTE
Chocolate con leche y avellanas	0,3657	0,6854	0,4286	0,0838	0,5977
Chocolate blanco	0,4057	0,6843	0,392	0,2503	0,3577
Turrón blanco crujiente	1	1	1	1	1

En la tabla 7 se pueden ver los valores de R^2 y valor-P obtenidos al ajustar los porcentajes de humedad y acidez oleica de los chocolates control al modelo lineal, y el índice de peróxidos al modelo logaritmo Y- raíz cuadrada X. Este valor determina el porcentaje de variabilidad del parámetro con el modelo estadístico ajustado; mientras mayor sea el R^2 , mejor será el ajuste del modelo a los datos y, por tanto, los resultados serán más fiables.

El coeficiente R^2 más alto del parámetro humedad se han obtenido en los chocolates con leche y almendras, con leche y avellanas y chocolate blanco, indicando que el modelo lineal explica el 82%, 98% y 96%, respectivamente, de la variabilidad. En el caso del chocolate con leche y chocolate negro, esta variabilidad es ligeramente superior al 50%.

En el parámetro índice de peróxidos, el chocolate con leche y almendras es el que mayor fiabilidad presenta (94,55%). En la acidez oleica, el coeficiente R^2 más elevado se ha obtenido en el chocolate negro. En el resto de chocolates estos valores son muy cercanos a 0 por lo que no podemos asegurar que vaya a existir ajuste a esa curva en un futuro. En el turrón blanco crujiente los datos obtenidos no se han tenido en cuenta al contar sólo con dos valores, dado que la fabricación es menos frecuente, lo que no nos permite conocer como ha sido la evolución de ese producto.

Dado que los coeficientes de correlación (R^2) en todos los chocolates y para todas las variables son muy bajos no se ha realizado el cálculo para establecer el modelo matemático que mejor describe la influencia de la temperatura sobre la constante de velocidad de las reacciones de degradación.

Los valores- P obtenidos del análisis estadístico de cada una de los parámetros fisicoquímicos ajustadas a los modelos matemáticos anteriormente mencionados (tabla

7) muestran que existe una relación estadísticamente significativa entre las variables estudiadas frente al tiempo de almacenamiento, con un nivel de confianza del 95%, en aquellas que presentan un valor-P menor de 0,05.

En el parámetro humedad existen tres chocolates (chocolate con leche y almendras, con leche y avellanas y chocolate blanco) con una relación estadísticamente significativa mayor frente al tiempo de almacenamiento, frente a dos chocolates en el índice de peróxidos (chocolate con leche y chocolate con leche y almendras) y uno en la acidez oleica (chocolate negro). Es decir, es en el parámetro humedad donde mayores cambios se observan y el índice de peróxidos el parámetro que menos cambios ha reportado.

Tabla 7: En los chocolates almacenados en óptimas condiciones (control), R^2 y valores- P obtenidos del ajuste de los parámetros humedad y acidez oleica al modelo lineal, y del índice de peróxidos al modelo logaritmo Y- raíz cuadrada X.

	Humedad		Índice de peróxidos		Acidez oleica	
	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P
Chocolate con leche	0,5851	0,0764	0,671	0,0461	0,3593	0,2086
Chocolate negro	0,5248	0,2756	-	-	0,9602	0,0201
Chocolate con leche y almendras	0,8287	0,0318	0,9455	0,0055	0,0149	0,845
Chocolate con leche y avellanas	0,9813	0,0094	0,6854	0,1721	0,0055	0,9261
Chocolate blanco	0,9633	0,003	0,6843	0,0839	0,0432	0,7371
Turrón blanco crujiente	-	-	-	-	-	-

En las tablas 8, 9 y 10 se pueden ver los valores de R^2 y valor-P del análisis estadístico de los tres parámetros fisicoquímicos analizados en los chocolates almacenados a las diferentes temperaturas, obtenidos con el ajuste a los modelos matemáticos utilizados en sus respectivos chocolates control.

Existen diferencias estadísticamente significativas entre la humedad y el tiempo de almacenamiento a 20°C en el chocolate negro, con leche y almendras y con leche y avellanas, y a 25°C en el chocolate con leche y almendras, con leche y avellanas y chocolate blanco, con un nivel de confianza del 95%. Para la temperatura de almacenamiento de 30°C no hay diferencias estadísticamente significativas en ningún chocolate. El coeficiente R^2 en los chocolates almacenados a 20°C que presentan diferencias significativas indica que la fiabilidad del método se encuentra entorno al 55%. En los chocolates almacenados a 25°C con diferencias significativas esta fiabilidad es del 50% o inferior.

Respecto al parámetro acidez oleica, solamente existen diferencias significativas en el chocolate con leche almacenado a 20°C y a 25°C, y en el turrón blanco crujiente almacenado a 25°C. El único valor de los tres parámetros estudiados con diferencias

significativas a 30°C se aprecia la acidez oleica del chocolate blanco, con una fiabilidad de repetición del 58,58%.

En el parámetro índice de peróxidos los datos no se ajustan al modelo utilizado dado que los coeficientes de correlación (R^2) toman valores muy cercanos a 0. El ajuste de estos mismos datos a otros modelos matemáticos no mostró valores superiores de R^2 . Los valores-P obtenidos son mayores a 0,05 por lo que tampoco existe una relación estadísticamente significativa entre el índice de peróxidos y el tiempo de almacenamiento a las diferentes temperaturas, con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 8: Coeficiente R^2 (modelo lineal) y valor- P obtenido del análisis estadístico entre la humedad y el tiempo de almacenamiento de los chocolates a diferentes temperaturas.

Humedad	20°C		25°C		30°C	
	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P
Chocolate con leche	0,2213	0,2013	0,0326	0,5199	0,1639	0,2168
Chocolate negro	0,5797	0,0171	0,1595	0,1403	0,2077	0,1589
Chocolate con leche y almendras	0,6459	0,0091	0,4745	0,0045	0,3293	0,0649
Chocolate con leche y avellanas	0,5353	0,025	0,5176	0,0025	0,2981	0,0823
Chocolate blanco	0,0018	0,914	0,4279	0,0082	0,0077	0,7979
Turrón blanco crujiente	0,0881	0,4381	0,0009	0,9149	0,0403	0,5541

Tabla 9: Coeficiente R^2 (modelo lineal) y valor- P obtenido del análisis estadístico entre el índice de peróxidos y el tiempo de almacenamiento de los chocolates a diferentes temperaturas.

Índice de peróxidos	20°C		25°C		30°C	
	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P
Chocolate con leche	0,2088	0,2163	0,079	0,3104	0,1334	0,2694
Chocolate negro	-	-	-	-	-	-
Chocolate con leche y almendras	0,0569	0,5367	0,0001	0,9698	0,3236	0,0678
Chocolate con leche y avellanas	0,1708	0,269	0,0042	0,8175	0,0237	0,6511
Chocolate blanco	0,1739	0,2641	0,0205	0,6111	0,2604	0,1088
Turrón blanco crujiente	0,0464	0,5778	0,0051	0,7995	0,0197	0,6806

Tabla 10: Coeficiente R^2 (modelo logaritmo Y- raíz cuadrada X) y valor- P obtenido del análisis estadístico entre la acidez oleica y el tiempo de almacenamiento de los chocolates a diferentes temperaturas.

Acidez oleica	20°C		25°C		30°C	
	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P	R^2	Valor- P
Chocolate con leche	0,5395	0,0242	0,341	0,0223	0,0853	0,3836
Chocolate negro	0,032	0,645	0,2116	0,0845	0,0928	0,3624
Chocolate con leche y almendras	0,0013	0,927	0,0444	0,451	0,0207	0,6727
Chocolate con leche y avellanas	0,0907	0,431	0,0004	0,9457	0,045	0,5313
Chocolate blanco	0,1998	0,2277	0,0317	0,5257	0,5858	0,006
Turrón blanco crujiente	0,3456	0,096	0,3238	0,0268	0,1349	0,2664

4. CONCLUSIONES

En los tres parámetros analizados los resultados no muestran ninguna tendencia clara, probablemente como consecuencia de la inestabilidad de las temperaturas de almacenamiento. Los valores de los parámetros fisicoquímicos no alcanzan el límite máximo establecido en cada uno de ellos, por lo que no se puede establecer el final de la vida útil de los chocolates.

En general, aunque en algún chocolate existen cambios significativos para alguna de las tres variables estudiadas, estos cambios no son suficientes para establecer una metodología que permita calcular la vida útil de los chocolates. Por otro lado, los valores de correlación obtenidos en los diferentes parámetros son muy bajos, impidiendo la modelización del comportamiento del chocolate con el método utilizado.

Debido a la complejidad de la matriz del alimento y a los cambios indeseados que pueden ocurrir durante el almacenamiento a elevadas temperaturas, se necesitan más ensayos para poder establecer una metodología alternativa que permita a la empresa determinar la vida útil de los chocolates de forma más rápida.

5. LIMITACIONES Y TRABAJOS FUTUROS

Una limitación importante de este estudio ha sido la falta de material adecuado para alcanzar la temperatura deseada en las tabletas de chocolate de forma homogénea y constante. El aumento de temperatura por encima de los 30°C en la estufa de secado ha hecho que muchas tabletas se fundieran, y dependiendo del volumen de muestras que había en la estufa estas no alcanzaban la temperatura de forma homogénea, siendo un sesgo muy importante a la hora de volver a repetir el procedimiento. Para desarrollar en un futuro una metodología para determinar la vida útil de los chocolates sería recomendable contar con una cámara climática de estabilidad y vida útil que permita un control más preciso de las temperaturas, así como poder incluir cambios en la humedad para acelerar las reacciones de degradación. Además, esta cámara permitiría también realizar estudios con cambios de temperatura y humedad en intervalos de tiempo.

En futuros ensayos sería recomendable incluir el análisis sensorial de las muestras de chocolate para la validación de las características organolépticas. Para ello, sería importante que la empresa contase con un panel de catadores entrenado con el fin de asegurar que los resultados obtenidos de las evaluaciones sensoriales sean representativos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M., 2007. *Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review*. Trends in Food Science & Technology 18, 290–298. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2007.02.002>
- Alapont Gutiérrez, C., Simón Soriano, P., Torrejón Lanero, M.J., 2020. *Guía para la determinación de la vida útil de los alimentos* (Primera edición). Valencia, España: Editorial FEDACOVA.
- Ali, A., Selamat, J., Che Man, Y.B., Suria, A.M., 2001. *Effect of storage temperature on texture, polymorphic structure, bloom formation and sensory attributes of filled dark chocolate*. Food Chemistry 72, 491–497. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00271-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00271-5)
- Badui Dergal, S., 2006. *Química de los alimentos* (Cuarta edición). Naucalpan de Juárez, Mexico: Editorial Addison Wesley.
- Barboza, B., Yoelinson, A., 2016. *Estimación de la vida útil de una bebida achocolatada mediante pruebas aceleradas por temperatura*. (Trabajo especial de grado, Universidad de Los Andes). <https://hdl.handle.net/10669/24328>
- Barden, L., Decker, E.A., 2016. *Lipid oxidation in low-moisture food: A review*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 56, 2467–2482. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.848833>
- Barrionuevo García, M.L., 2016. *Cinética de oxidación del aceite de oliva virgen extra de diferentes variedades mediante pruebas aceleradas de vida útil*. (Trabajo fin de máster, Universidad de Córdoba). <http://hdl.handle.net/10396/14107>
- Beckett, S.T., 2008. *La ciencia del chocolate*. Zaragoza, España: Editorial ACRIBIA.
- Beckett, S.T., Fowler, M.S., Ziegler, G.R., 2017. *Beckett's industrial chocolate manufacture and use*, Fifth edition. Ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- Callebaut, B., 2022. *Water activity*. <https://www.barry-callebaut.com/en/manufacturers/news-events/water-activity> (acceso 18/05/2022).

- Calligaris, S., Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M.C., 2016. *Shelf-life assessment of food undergoing oxidation-A Review*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 56, 1903-1912. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.807222>
- Calligaris, S., Manzocco, L., Kravina, G., Nicoli, M.C., 2007. *Shelf-life modeling of bakery products by using oxidation indices*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55, 2004–2009. <https://doi.org/10.1021/JF063004H>
- Calligaris, S., Pieve, S.D., Kravina, G., Manzocco, L., Nicoli, C.M., 2008. *Shelf life prediction of bread sticks using oxidation indices: A validation study*. Journal of Food Science 73, E51- E56. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2007.00624.X>
- Castillo Golles, D.M., Silva Sánchez, C.N., 2015. *Determinación de la vida de anaquel del chocolate de taza elaborado por ASDEME, mediante pruebas aceleradas (ASLT) en dos tipos de empaque*. (Tesis doctoral, Universidad Nacional de Piura, Perú). <https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/365/AGR-CAS-GOL-15.pdf?sequence=1>
- Chica Cardona, B.A., Osorio Saldarriaga, S.L., 2003. *Determinación de la vida de anaquel del chocolate de mesa sin azúcar en una película de polipropileno biorientado*. (Trabajo de grado, Universidad Nacional de Colombia). repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/3100/bibianachicasandraosorio.2003.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Codex Alimentarius (1981). *Norma para el chocolate y los productos del chocolate*. Codex Stan 87- 1981. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B87-1981%252FCXS_087s.pdf
- Codex Alimentarius (1999). *Métodos de análisis y muestreo recomendados*. Codex Stan 234- 1999. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B234-1999%252FCXS_234e.pdf
- Daza La Plata, A., Chire Fajardo, G.C., Ureña Peralta, M.O., 2020. *Cinética de eflorescencia grasa en muestras de chocolate oscuro comercial en Perú*. Acta Agronómica 69, 81–88. <https://doi.org/10.15446/ACAG.V69N2.79782>

- Durá Esteve, S., Pérez Esteve, É., Fuentes López, A., Barat Baviera, J.M., 2016. *Estudio del valor nutricional y funcional del cacao en polvo con diferentes grados de alcalinización*. (Trabajo fin de máster, Universidad Politécnica de Valencia). <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/65834/-DUR%c3%81%20-%20Estudio%20del%20valor%20nutricional%20y%20funcional%20de%20cacao%20en%20polvo%20con%20diferentes%20grados%20de%20alcal....pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Engeseth, N.J., Ac Pangan, M.F., 2018. *Current context on chocolate flavor development— a review*. *Current Opinion in Food Science* 21, 84–91. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2018.07.002>
- Ergun, R., Lietha, R., Hartel, R.W., 2010. *Moisture and shelf life in sugar confections*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50, 162–192. <https://doi.org/10.1080/10408390802248833>
- Evranuz, E.Ö., 1993. *The effects of temperature and moisture content on lipid peroxidation during storage of unblanched salted roasted peanuts: shelf life studies for unblanched salted roasted peanuts*. *International Journal of Food Science & Technology* 28, 193–199. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1993.TB01264.X>
- García Baldizón, C., Molina Córdoba, M.E., 2008. *Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas*. *Ingeniería* 18, 57-64. <http://dx.doi.org/10.15517/ring.v18i1-2.653>
- Ghosh, V., Ziegler, G.R., Anantheswaran, R.C., 2002. *Fat, moisture, and ethanol migration through chocolates and confectionary coatings*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 42, 583–626. <https://doi.org/10.1080/20024091054265>
- Giannakourou, M.C., Gogou, E., Taoukis, P.S., 2021. *Reaction kinetics in food-processing engineering*. *Engineering Principles of Unit Operations in Food Processing* 1, 443- 470. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818473-8.00010-4>
- González Muñoz, Y., Pérez Sira, E., Palomino Camargo, C., 2012. *Factors influencing the sensory quality of chocolate*. *Actualización en Nutrición* 13, 314–331. https://www.researchgate.net/publication/236606348_Factores_que_inciden_en_la_calidad_sensorial_del_chocolate

- Gumus, C.E., Decker, E.A., Goicoechea, E., Ruiz-Aracama, A., Artieda, D.A., 2021. *Oxidation in low moisture foods as a function of surface lipids and fat content*. *Foods*, 10, 860 <https://doi.org/10.3390/foods10040860>
- Gutiérrez, T.J., 2017. *State of the art chocolate manufacture: A review*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 1313–1344. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12301>
- Guzmán Carrillo, L.E., Martínez Duque, D.P., Martínez Zuluaga, D.E., Acevedo, D., Montero, P.M., 2016. *Study of useful life of ham through accelerated testing*. *Interciencia* 41. 488-491. <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2017/10/488-ACEVEDO-41-7.pdf>
- Hidayati, S., Sartika, D., Sutoyo, S., Fudholi, A., 2022. *Predict the shelf life of instant chocolate in vacuum packing by using accelerated shelf life test (ASLT)*. *Mathematical Modelling of Engineering Problems* 9, 443–450. <https://doi.org/10.18280/MMEP.090220>
- Hřivna, L., Machálková, L., Burešová, I., Nedomová, Š., Gregor, T., 2021. *Texture, color, and sensory changes occurring in chocolate bars with filling during storage*. *Food Science & Nutrition* 9, 4863-4873. <https://doi.org/10.1002/FSN3.2434>
- Maskan, M., Öner, M.D., Aya, A.K., 1993. *Storage stability and accelerated shelf life testing of margarine samples*. *Journal of Food Quality* 16, 175–186. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4557.1993.TB00104.X>
- Montoya Buitrago, J.J., 2003. *Estudio de la formación de bloom en el chocolate mediante técnica de difracción de rayos X*. (Trabajo de grado, Universidad de Colombia). <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/2690>
- Nightingale, L.M., Lee, S.Y., Engeseth, N.J., 2011. *Impact of storage on dark chocolate: texture and polymorphic changes*. *Journal of Food Science* 76, C142–C153. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2010.01970.X>
- Nuñez de Villavicencio, M., Hernández Álvarez, R., Rodríguez Álvarez, I., Rodríguez, J., Torres López, Y., 2017. *Metodología para la estimación de la vida útil de los alimentos. II. Métodos de estimación*. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 27, 75-82.

https://www.researchgate.net/publication/322701856_METODOLOGIA_PARA_LA_ESTIMACION_DE_LA_VIDA_UTIL_DE_LOS_ALIMENTOS_II_METODOS_DE_ESTIMACION

Olaimat, A.N., Osaili, T.M., Al-Holy, M.A., Al-Nabulsi, A.A., Obaid, R.S., Alaboudi, A.R., Ayyash, M., Holley, R., 2020. *Microbial safety of oily, low water activity food products: A review.* Food Microbiology 92. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2020.103571>

Pastor, C., Santamaría, J., Chiralt, A., Aguilera, J.M., 2007. *Gloss and colour of dark chocolate during storage.* Food Science and Technology International 13, 27–34. <https://doi.org/10.1177/1082013207075664>

Phimolsiripol, Y., Suppakul, P., 2016. *Techniques in shelf life evaluation of food products.* Reference Module in Food Science. First Edition. 1-8 <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03293-5>

Pirouzian, H.R., Konar, N., Palabiyik, I., Oba, S., Toker, O.S., 2020. *Pre-crystallization process in chocolate: Mechanism, importance and novel aspects.* Food Chemistry 321, 126718. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.126718>

Podolak, R., Enache, E., Stone, W., Black, D.G., Elliott, P.H., 2010. *Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of Salmonella in low-moisture foods.* Journal of Food Protection 73, 1919–1936. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.10.1919>

Real Decreto 1055/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria sobre los productos de cacao y chocolate destinados a la alimentación humana. Boletín Oficial del Estado, 186, de 5 de agosto de 2003. <https://www.boe.es/eli/es/rd/2003/08/01/1055>

Reglamento (CE) nº 1441/2007 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2007, que modifica el Reglamento (CE) nº 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Texto pertinente a efectos del EEE). Diario Oficial de la Unión Europea (DOUE), L 322, 12-29. ELI: <http://data.europa.eu/eli/reg/2007/1441/oj>

Roda, A., Lambri, M., 2019. *Changes in antioxidants and sensory properties of italian chocolates and related ingredients under controlled conditions during an eighteen-*

month storage period. Nutrients, 11, 2719-2740.
<https://doi.org/10.3390/NU11112719>

Rodríguez Gómez, J.M., 2010. *Consecuencias higiénicas de la alteración de los alimentos.* En: *Aspectos Higiénicos de Los Alimentos Microbiológicamente Seguros* (19–66). Madrid, España: Editorial Real Academia Nacional de Farmacia.

Rondón, E., Pacheco Delahaye, E., Ortega, F., 2004. *Estimación de la vida útil de un análogo comercial de mayonesa utilizando el factor de aceleración Q10.* Revista de la Facultad de Agronomía 21, 68-83.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182004000100007&lng=es&tlng=es

Rossini, K., Noreña, C.P.Z., Brandelli, A., 2011. *Changes in the color of white chocolate during storage: potential roles of lipid oxidation and non-enzymatic browning reactions.* Journal of Food Science and Technology 48, 305–311.
<https://doi.org/10.1007/S13197-010-0207-X>

Rothkopf, I., 2017. *Hazelnut quality influences shelf life of chocolate with whole nuts.* Fraunhofer Institute for Process Engineering and Packaging IVV.
https://www.researchgate.net/publication/308504816_Hazelnut_quality_influences_shelf_life_of_chocolate_with_whole_nuts

Shafiei, G., Ghorbani, M., Hosseini, H., Mahoonak, A.S., Maghsoudlou, Y., Jafari, S.M., 2020. *Estimation of oxidative indices in the raw and roasted hazelnuts by accelerated shelf-life testing.* Journal of Food Science and Technology 57, 2433-2442. <https://doi.org/10.1007%2Fs13197-020-04278-9>

Stauffer, M., 2007. *Conquering shelf- life issues of chocolate. The manufacturing confectioner.* https://www.blommer.com/published_articles/Conquering_Shelf-life_Issues_of_Chocolate.pdf

Subramaniam, P.J., 2009. *Shelf-life prediction and testing.* Science and Technology of Enrobed and Filled Chocolate, Confectionery and Bakery Products 233–254.
<https://doi.org/10.1533/9781845696436.2.233>

Suri, T., Basu, S., 2021. *Heat resistant chocolate development for subtropical and tropical climates: a review.* Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 62, 5603-5622. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1888690>

- Svanberg, L., Lorén, N., Ahrné, L., 2012. *Chocolate swelling during storage caused by fat or moisture migration*. Journal of Food Science 77, E328–E334. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2012.02945.X>
- Torbica, A., Jambrec, D., Tomić, J., Pajin, B., Petrović, J., 2016. *Solid fat content, pre-crystallization conditions, and sensory quality of chocolate with addition of cocoa butter analogues*. International Journal of Food Properties 19, 1029–1043. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1052881>
- Valenzuela B., Alfonso, 2007. *El chocolate, un placer saludable*. Revista Chilena de Nutrición, 34. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46934302>
- Vercet, A., 2003. *Browning of white chocolate during storage*. Food Chemistry 81, 371–377. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00452-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00452-1)
- Wong, C.W., Wijayanti, H.B., Bhandari, B.R., 2015. *Maillard reaction in limited moisture and low water activity environment*. En: Gutiérrez-López, G., Alamilla-Beltrán, L., del Pilar Buera, M., Welti-Chanes, J., Parada-Arias, E., Barbosa-Cánovas, G. (eds) *Water Stress in Biological, Chemical, Pharmaceutical and Food Systems*. New York, NY: Food Engineering Series. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2578-0_4
- Zhao, H., James, B.J., 2019. *Fat bloom formation on model chocolate stored under steady and cycling temperatures*. Journal of Food Engineering 249, 9–14. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.12.008>