

***UNIVERSIDAD DE OVIEDO***

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA  
ALIMENTARIA**

**“MODIFICACIONES REOLÓGICAS Y  
ESTRUCTURALES DE CHOCOLATE  
INDUSTRIAL MEDIANTE EL USO DE  
ADITIVOS TEXTURIZANTES”**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER  
POR**

**LUCÍA TUERO COLLERA**

**JULIO, 2021**





Master en Biotecnología Alimentaria  
Universidad de Oviedo  
C/Julián Clavería s/n. 33071 Oviedo. España



### **PROFESOR TUTOR:**

Dr. D. Manuel Rendueles de la Vega (Universidad de Oviedo)

Dr. D. Ismael Marcet Manrique (Universidad de Oviedo)

### **CERTIFICA:**

Que D. **Lucia Tuero Collera** ha realizado bajo mi dirección el Trabajo Fin de Máster al que corresponde la presente memoria en el contexto de los estudios del Master Universitario en Biotecnología Alimentaria, 15ª promoción curso 2020-2021.

Oviedo, 8 de Julio de 2021

D. Manuel Rendueles

D. Ismael Marcet

VºBº

Manuel Rendueles de la Vega

Coordinador del Master en Biotecnología Alimentaria

## **AGRADECIMIENTOS**

Mi más sincero agradecimiento a Manuel Rendueles, Ismael Marcet y María Pombal por guiarme y apoyarme en la elaboración de este proyecto. Por su dedicación y confianza desde el principio hasta el final.

## ÍNDICE

1. <b>INTRODUCCIÓN</b> .....	10
1.1. <b>OBJETIVOS</b> .....	11
2. <b>CONSIDERACIONES TEÓRICAS Y/O EXPERIMENTALES</b> .....	12
2.1. <b>PROCESADO DEL CACAO. DEL HABA AL CHOCOLATE</b> .....	12
2.2. <b>PROPIEDADES REOLÓGICAS</b> .....	17
2.2.1. <b>Antecedentes históricos</b> .....	17
2.2.2. <b>Conceptos reológicos</b> .....	20
2.2.3. <b>Fluidos</b> .....	21
2.2.4. <b>Instrumentación</b> .....	23
2.2.5. <b>Modelos reológicos</b> .....	24
2.3. <b>REOLOGÍA DEL CHOCOLATE</b> .....	25
2.3.1. <b>Instrumentación y modelos</b> .....	26
2.3.2. <b>Factores que afectan a las propiedades reológicas</b> .....	27
2.4. <b>MICROESTRUCTURA</b> .....	32
3. <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	33
3.1. <b>Fabricaciones</b> .....	33
3.2. <b>Determinación del porcentaje de humedad (%)</b> .....	34
3.3. <b>Determinación del porcentaje de grasa total (%)</b> .....	35
3.4. <b>Determinación del tamaño de partícula</b> .....	36
3.5. <b>Determinación de las propiedades reológicas</b> .....	37
3.6. <b>Determinación de la microestructura</b> .....	39
4. <b>RESULTADOS</b> .....	42
4.1. <b>Caracterización básica de las diferentes fabricaciones de chocolate</b> .....	42
4.1.1. <b>Porcentaje de humedad</b> .....	42
4.1.2. <b>Porcentaje de grasa total</b> .....	43
4.1.3. <b>Tamaño de partícula</b> .....	45
4.1.4. <b>Microestructura</b> .....	48
4.2. <b>Propiedades reológicas</b> .....	49
4.2.1. <b>Efecto de los emulsionantes sobre la viscosidad (<math>\eta</math>)</b> .....	49
4.2.2. <b>Efectos de los emulsionantes sobre el límite de fluencia</b> .....	53
4.2.3. <b>Evaluación de las curvas de flujo</b> .....	57
4.2.4. <b>Efectos de los emulsionantes sobre la tixotropía</b> .....	58
4.3. <b>Microscopía de fluorescencia</b> .....	59
5. <b>CONCLUSIONES</b> .....	63
6. <b>SÍMBOLOS</b> .....	64
7. <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	65
<b>ANEXO I. FICHAS TÉCNICAS DE LOS EMULGENTES.</b>	

## **RESUMEN**

En el presente trabajo fin de máster se investigó el efecto de diferentes emulsionantes en las propiedades reológicas y estructurales de un chocolate 48% de cacao. Lecitina de soja y polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) fueron los emulsionantes utilizados. Las propiedades reológicas y estructurales fueron caracterizadas mediante reología y microscopía. Las primeras se estudiaron mediante el empleo de un reómetro rotacional y las segundas fueron analizadas con microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía de fluorescencia. A su vez se estudiaron factores que pueden influir en las propiedades reológicas como son la humedad, la grasa y la distribución del tamaño de partícula (PSD).

Los resultados obtenidos indican que la adición de emulgentes sobre el chocolate en la fase final del conchado húmedo no afecta a la humedad, grasa ni a la distribución del tamaño de partícula. Si bien, se refleja un claro efecto del PGPR sobre la viscosidad y el límite de deslizamiento. Este último disminuye de manera drástica llegando a anularse mientras que la viscosidad se reduce, pero no en gran medida. Los datos también reflejan la necesidad del conchado de emulgentes de manera industrial. En cuanto a la caracterización de la microestructura no se observaron efectos sobre la superficie de las muestras.

## **ABSTRACT**

In the present master's degree work, the effect of different emulsifiers on the rheological and structural properties of a 48% cocoa chocolate was investigated. Soy lecithin and polyglycerol polyricinoleate (PGPR) were the emulsifiers used. The rheological and structural properties were characterized by rheology and microscopy. The former were studied using a rotational rheometer and the latter were analyzed with scanning electron microscopy (SEM) and fluorescence microscopy. In turn, factors that can influence rheological properties such as humidity, fat and particle size distribution (PSD) were studied.

The results obtained indicate that the addition of emulsifiers on the chocolate in the final phase of the wet conching does not affect the humidity, fat or the distribution of the particle size. However, a clear effect of PGPR on viscosity and slip limit is reflected. The latter decreases drastically, reaching zero while the viscosity is reduced, but not to a great extent. The data also reflects the need for emulsifying shells in an industrial way. Regarding the characterization of the microstructure, no effects were observed on the surface of the samples.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Vaina y granos de cacao.....	12
Figura 2. Etapas de la elaboración industrial del chocolate .....	16
Figura 3. Representación de cizalla en un fluido. ....	18
Figura 4. Tipos de deformaciones. ....	20
Figura 5. Curvas de esfuerzo-deformación.....	20
Figura 6. Curvas de flujo y viscosidad.. ....	22
Figura 7. Comportamiento tixotrópico .....	23
Figura 8. Influencia del contenido en grasa en los parámetros reológicos de Casson en dos chocolates con leche con un 0,25% de lecitina. ....	27
Figura 9. Estructura química de la lecitina de soja.....	30
Figura 10. Estructura química del polirricinoleato de poliglicerol (PGPR).....	30
Figura 11. Unidad de medida Mastersizer 2000E .....	37
Figura 12. Unidad de dispersión utilizada para las muestras. ....	37
Figura 13. Reómetro rotacional Haake Mars II.....	38
Figura 14. Microscopio electrónico de barrido JEOL-6610LV .....	39
Figura 15. Estereomicroscopio de fluorescencia Leica M205FA .....	41
Figura 16. Representación gráfica de los resultados del porcentaje de humedad de las diferentes preparaciones de chocolate industrial. ....	43
Figura 17. Representación gráfica de los resultados del porcentaje de grasa de las diferentes preparaciones de chocolate industrial. ....	44
Figura 18. Distribución del tamaño de partícula de las cuatro fabricaciones industriales. ....	46
Figura 19. Distribución del tamaño de partícula en las muestras de la cuarta fabricación. ....	47
Figura 20. Imagen microestructural de F4 captada por el SEM a x140. ....	48
Figura 21. Imagen microestructural de F4 captada por SEM a x650. ....	49
Figura 22. Tendencia de viscosidad de Casson de las cuatro fabricaciones industriales con diferentes concentraciones de PGPR. ....	50
Figura 23. Efecto del PGPR sobre la viscosidad ( $\eta$ ) para las cuatro fabricaciones industriales de chocolate.....	51
Figura 24. Efecto comparado, en 4F y 4FSE, del PGPR sobre la viscosidad.. ....	52

Figura 25. Efecto del PGPR sobre el límite de fluencia empleando al modelo de Casson para las muestras de las cuatro fabricaciones industriales con diferentes concentraciones de PGPR. ....	54
Figura 26. Efecto del PGPR sobre el límite de fluencia empleando el modelo de Bingham para las cuatro fabricaciones industriales de chocolate. ....	54
Figura 27. Efecto comparado, en 4F y 4FSE, del PGPR sobre el límite de fluencia. ....	56
Figura 28. Curva de flujo de 4F para todas las adiciones de PGPR. ....	57
Figura 29. Tendencia tixotrópica en las cuatro fabricaciones industriales de chocolate.	58
Figura 30. Imagen microestructural de F4SE captada con microscopía de fluorescencia. ....	60
Figura 31. Imagen microestructural de F4SE captada con microscopía de fluorescencia y luz verde. ....	61
Figura 32. Imagen microestructural de F4SE captada con microscopía de fluorescencia y luz roja. ....	61
Figura 33. Imagen microestructural de F4 con 0,3% de lecitina y 0,8% de PGPR total.	62

## **LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. Evolución histórica del estudio de la reología.....	19
Tabla 2. Resumen de las muestras preparadas. Los % de emulgentes indicados se expresan como los añadidos a las fórmulas base de las fabricaciones indicadas, siendo en todas un 0,3% de lecitina y un 0,2% de PGPR excepto en la F4SE. ....	34
Tabla 3. Condiciones de trabajo del reómetro rotacional.....	38
Tabla 4. Datos de los parámetros PSD obtenidos mediante Mastersizer de las diferentes preparaciones industriales.....	45

## 1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el chocolate es un alimento muy popular en todo el mundo. El cacao, semilla del árbol *Theobroma cacao*, tiene su origen en Centroamérica donde era un bien preciado y se utilizaba como moneda de cambio, aparte de como bebida por los mayas y aztecas. Las primeras habas de cacao llegaron a Europa traídas por Colón, pero no fueron explotadas comercialmente hasta Cortés que introdujo el alimento como una bebida extendiéndose al poco tiempo como medicamento y estimulante. Fue en Europa donde se le agregó azúcar para complacer al paladar. En el siglo XVIII era la bebida por excelencia de la aristocracia europea y a mediados de este, se empezó a procesar como sólido gracias al descubrimiento de técnicas para la extracción del contenido graso del cacao, conocido como manteca (Beckett, 2009) (Verna, 2013). Se consiguió el procesado de tabletas de chocolate, gracias a una mezcla de granos de cacao molido, azúcar y manteca. Desde entonces se fueron perfeccionando las técnicas de procesamiento, así como adicionando otros ingredientes a la mezcla hasta conseguir ser uno de los alimentos más populares en estos tiempos (Devos, et al., 2021) (Konstantas et al., 2018).

Científicamente el chocolate se define como una suspensión semisólida de partículas finas sólidas de azúcar y cacao, alrededor del 70% del total, en una fase grasa continua. A temperatura ambiente (20-25°C) es sólido fundiéndose a temperatura oral (37°C) durante su consumo. La composición del chocolate presenta tres variedades distinguidas siendo chocolate negro, chocolate con leche y chocolate blanco que difieren en el contenido de sólidos de cacao, grasa láctea y manteca de cacao, y por lo tanto los productos finales tienen diferentes composiciones de carbohidratos, grasas y proteínas (Ostrowska-Ligeza, et al., 2018).

Las diferencias en el carácter sensorial para un mismo tipo de chocolate se pueden atribuir al tipo de haba, a las diferentes concentraciones de ingredientes, a los métodos de procesamiento o a sus propiedades reológicas (Afoakwa, et al., 2007).

Actualmente las propiedades reológicas del chocolate son importantes para el aseguramiento de la calidad. Reológicamente el chocolate muestra un comportamiento no newtoniano caracterizado por la viscosidad plástica y el límite de fluencia. La primera se define como la energía necesaria para mantener el fluido en movimiento y el límite es la cantidad de energía requerida para iniciar el flujo del fluido (Afoakwa, et al., 2009).

Estas propiedades dependen de diversos factores como el contenido en grasa y humedad, el tamaño de partícula, el tiempo de conchado, la adición de emulgentes y la temperatura que afectan al proceso industrial de fabricación del chocolate (Gonçalves & Lannes, 2010a).

En la fase grasa continua del chocolate, el azúcar no se disuelve por lo que la superficie tiene que estar cubierta de grasa. Esto se consigue, en parte, gracias al uso de agentes tensioactivos que mantienen las propiedades de flujo deseables. La lecitina de soja y el poliricinoleato de poliglicerol (PGPR) son algunos de estos agentes. Ambos influyen directamente en las propiedades reológicas del chocolate y hoy en día su uso en la industria es muy habitual para conseguir las características finales deseables en el producto (Afoakwa et, al. 2007).

## **1.1.OBJETIVOS**

- El objetivo principal es la caracterización de las propiedades reológicas de un chocolate industrial, así como los cambios que se producen en ellas por la adición de emulgentes.

Del objetivo principal derivan una serie de objetivos particulares:

- Estudiar el efecto en las propiedades reológicas por la adición de PGPR y lecitina de soja a diferentes %.
- Estudiar otros factores que influyen en las propiedades reológicas como la dispersión del tamaño de partícula, el porcentaje de grasa, el porcentaje de humedad y el conchado.
- Estudiar la reproducibilidad del conchado mediante el empleo de una mezcla manual en el laboratorio.
- Estudiar el efecto de la adición de emulgentes en la microestructura del chocolate.

## **2. CONSIDERACIONES TEÓRICAS Y/O EXPERIMENTALES**

### **2.1. PROCESADO DEL CACAO. DEL HABA AL CHOCOLATE.**

El procesado del cacao parte desde el árbol *Theobroma cacao*. Este árbol se cultiva hoy en día en todas las regiones de la selva tropical húmeda, principalmente dentro de 20° norte y 20° sur aproximadamente del ecuador. Los principales países productores son África occidental (Costa de Marfil y Ghana), América Latina (Ecuador) y el sudeste asiático (Indonesia) (World Cocoa Foundation, 2021), siendo Costa de Marfil el mayor productor de cacao abarcando el 33% de la oferta mundial (Beg et al., 2017).

Los granos de cacao se encuentran dentro de las vainas de cacao las cuales crecen desde el tronco y las ramas del árbol. Cuando las vainas están maduras se procede a la cosecha abriéndolas para extraer de ellas los granos de cacao húmedos y almacenarlos en cestas, cajas o amontonarlos en pilas (World Cocoa Foundation, 2021). En este momento los granos de cacao, también llamados habas de cacao, están embebidos en una pulpa azucarada y mucilaginoso, ambos, materiales muy propensos a degradarse, y a su vez la pulpa es difícil de eliminar mecánicamente y de difícil desecación. La solución a estos problemas es la fermentación de los granos (Beckett, 1994 & 2009). En la Figura 1 se presentan la vaina y los granos de cacao.



*Figura 1. Vaina y granos de cacao*

Los granos de cacao almacenados tras la cosecha se cubren con hojas de plátano y se exponen al sol para iniciar una fermentación anaeróbica. Este proceso dura de tres a siete días y tiene como finalidad licuefacción, eliminación de pulpa mucilaginosa y desarrollo de aroma, color y sabor gracias a la acción de levaduras y bacterias que degradan los azúcares y mucílagos de la pulpa (Beg et al., 2017). Después de la fermentación viene una etapa de secado al sol que comprende de cinco a siete días en los que las habas se extienden en bandejas o camillas. Durante esta etapa se mueven los granos para asegurar una aireación y secado uniforme en todas las habas hasta un 7% de contenido de humedad. Ambos procesos, fermentación y desecación, son esenciales en la calidad de los granos de cacao ya que, por un lado, las habas sin fermentar adquieren un sabor amargo y por otro, si el proceso de secado no se desarrolla de la manera más eficiente se puede producir el desarrollo de mohos (End & Dand, 2015). Una vez finalizado el proceso de secado los granos de cacao se empaquetan en sacos y se exportan a diferentes países del mundo (Beckett, 1994 & 2009).

Cuando las habas de cacao llegan desde sus países de origen a una fábrica de procesado industrial de cacao contienen cuerpos extraños como piedras, cuerda, madera y arena. Es primordial eliminar estos materiales por lo que el primer proceso al que se someten las habas es a una limpieza (Beg, et al., 2017). Posteriormente se exponen a un tratamiento térmico denominado tostado el cual se desarrolla temperaturas entre 110 y 160°C en un intervalo de tiempo entre 5 y 120 minutos, y que resulta en la formación de aroma y sabor deseables gracias a la producción de alteraciones físico-químicas. Además de la calidad de las habas, en las transformaciones físico-químicas que se producen durante el tostado influyen la temperatura, el tiempo y el flujo de aire (Van Durme. et al., 2016). Gracias al tostado se consigue la reducción del contenido de humedad del 7% al 1-5%, la destrucción de microorganismos, la evaporación de compuestos indeseables como los ácidos volátiles, especialmente el ácido acético. El tostado se considera una etapa fundamental ya que en ella se producen reacciones de Maillard debido a la interacción de precursores químicos formados durante la fermentación que son de gran importancia para la formación de compuestos relacionados tanto con el sabor como con el color del cacao (Beckett, 2009) (Afoakwa, 2010). Tras este proceso de tostado se produce el triturado de las habas, mientras están todavía calientes, donde las habas enteras y las rotas se separan con una criba preliminar después del tostado quedando las habas rotas en la criba y por tanto separadas del proceso. Una vez limpias, tostadas y trituradas se procede al

descascarillado de las habas consistente en la eliminación de la cubierta o cascarilla. El producto interior del grano obtenido, también denominado nib de cacao, se muele pudiéndose obtener de él cacao en polvo, manteca de cacao o licor de cacao (pasta de cacao). Para la obtención de pasta de cacao el nib se muele mediante una serie de equipos denominados molinos con el fin de obtener una masa fina y homogénea. Primero se realiza una trituración previa, a altas temperaturas, durante la cual la manteca de cacao que se va liberando se funde como resultado de la elevación de temperatura, licuándose la masa. Este producto se sigue moliendo en una o dos etapas posteriores en función del tipo de producto final deseado. Para asegurar una trituración con alta calidad y conseguir una pasta de cacao fina se utilizan dos molinos más, uno de piedras y otro de bolas, con el fin de asegurar la obtención de una pasta de cacao con el tamaño de partícula final deseado. El licor de cacao es prensado con el fin de desgrasarlo y obtener manteca de cacao mediante el uso de una prensa horizontal. De este proceso se obtienen dos productos: manteca de cacao y una torta de cacao desgrasada. Esta última se quebranta, se enfría y reduce con el uso de un triturador para obtener cacao en polvo, también denominado turto (Beckett, 1994 & 2009). En las fábricas industriales destinadas a la elaboración del chocolate no es necesario disponer de estos sistemas de procesado del haba de cacao ya que, tanto la pasta de cacao como la manteca y el turto se pueden adquirir de diferentes proveedores.

Con el fin de obtener chocolate, los siguientes procesos industriales consisten en una mezcla de ingredientes, una reducción del tamaño de las partículas de estos y un conchado. El mezclado consiste en la combinación de los diferentes ingredientes que lleva una receta de chocolate. En el caso del chocolate negro, este se compone principalmente de pasta de cacao, azúcar y manteca, además de por emulgentes y aromas. Una vez ha tenido lugar el mezclado se procesa la mezcla con el fin de reducir el tamaño de las partículas en la masa mediante el uso de una refinadora. Esta se compone de rodillos o cilindros, generalmente cinco, dispuestos horizontalmente formando una pila que giran moliendo la mezcla y, por tanto, reduciendo el tamaño de partícula gracias a la acción combinada de compresión y cizallamiento. Como resultado se obtiene un polvo fino. En algunos casos el proceso de refinación se compone de dos etapas incorporándose una prerrefinadora de dos rodillos al sistema para asegurar una mayor calidad del producto (Beckett, 2009). Gracias a la reducción del tamaño de partícula, la superficie de estas

queda expuestas y son envueltas por la fase grasa que le confiere al chocolate sus propiedades reológicas (Cavella. et al., 2020) (Glicerina & Romani, 2017).

Finalmente tiene lugar el conchado, proceso en el que el chocolate se somete a un tratamiento térmico prolongado (por encima de 40 °C), fuerzas mecánicas y adición de grasa y emulsionantes. Esta etapa tiene lugar en dos fases: seca y húmeda. La primera reduce el nivel de humedad, elimina ácidos volátiles como el acético y la superficie de las partículas sólidas se cubren de grasa. En la segunda fase, se busca conseguir una masa fluida homogénea agregando grasa y emulsionantes. Los cambios en la temperatura de conchado, el tiempo y el tipo de cizallamiento según el equipo, afectan a las propiedades reológicas y a las características organolépticas (Toker. et al., 2019) (Glicerina & Romani, 2017)

Todas las etapas del procesado del producto, desde el haba de cacao hasta el chocolate influyen directamente en la calidad de éste, y por tanto en sus propiedades reológicas (Toker, et al., 2019).

El proceso de elaboración del chocolate se resume en la Figura 2.

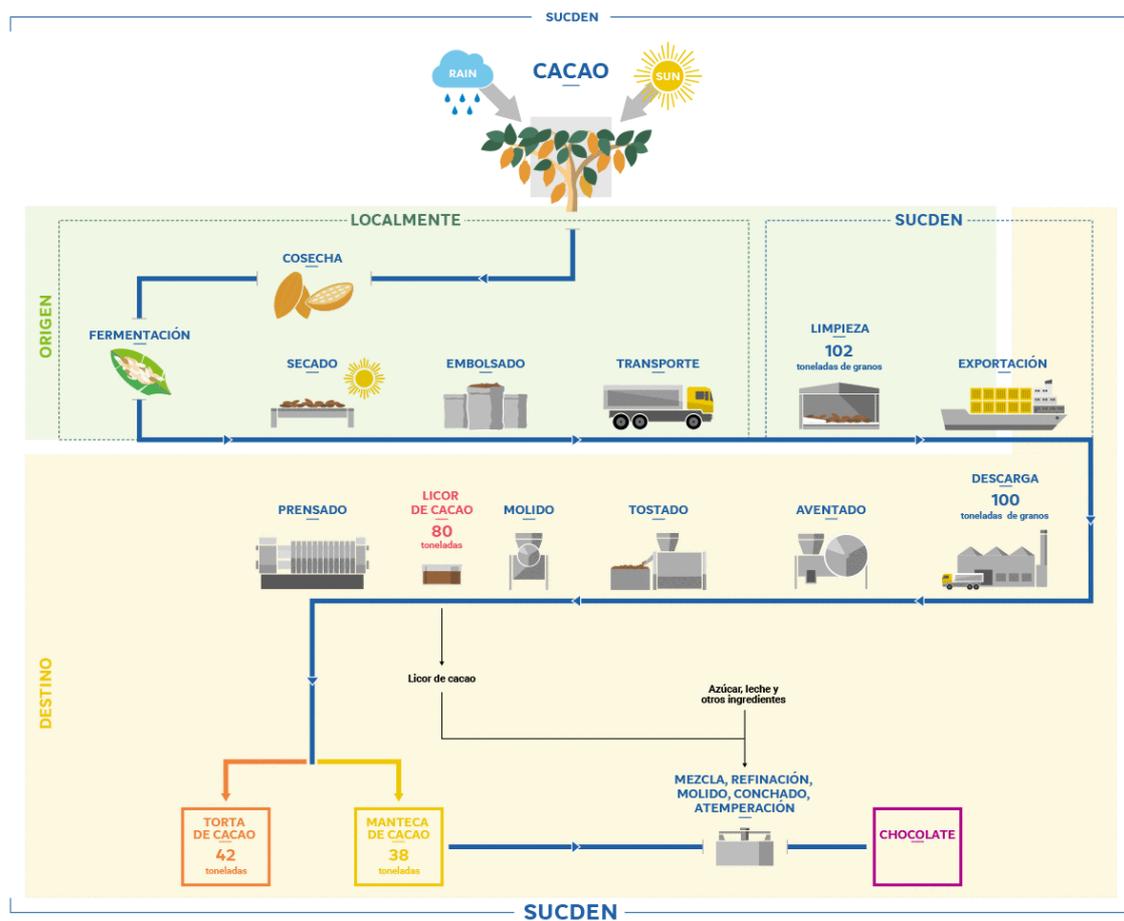


Figura 2. Etapas de la elaboración industrial del chocolate (S&D Sucden, 2021).

Los principales tipos de chocolate son el oscuro o negro, el leche y el blanco. El chocolate negro es una suspensión de azúcar y sólidos de cacao sin grasa en la manteca de cacao; el chocolate con leche contiene sólidos de leche y grasa láctea en la mezcla; y el chocolate blanco se compone de sólidos de leche y grasa de leche sin sólidos de cacao. El chocolate también puede incluir emulsionantes como la lecitina y el poliglicerol poliricinoleato (PGPR), así como sal, saborizantes y/o especias (Glicerina & Romani, 2017). Para fabricar cualquier tipo de chocolate a nivel industrial hay que tener en cuenta las propiedades reológicas que se esperan conseguir, ya que estas dependen en gran medida de factores que intervienen en el proceso de fabricación.

## 2.2. PROPIEDADES REOLÓGICAS

La reología es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de los materiales. La caracterización reológica de los alimentos esta englobada en la ciencia de estos. Aborda la producción industrial de los alimentos desde la agitación, el bombeo hasta la dosificación, a la vez que se vincula con las propiedades organolépticas. La reología determina las condiciones dinámicas en las que fluye un material alimentario (Fischer & Windhab, 2011).

### 2.2.1. Antecedentes históricos

El término ‘Reología’ fue inventado por E.C. Bingham en 1928. Se extiende desde la mecánica de fluidos newtonianos hasta la elasticidad de Hooke, entre otros (Ramirez, 2006).

En 1678 Robert Hooke fue el primero en referirse a la reología en su libro ‘Verdadera teoría de la Elasticidad’ donde postulaba ‘Si se dobla la tensión ( $\sigma$ ), se dobla la deformación ( $\gamma$ )’. Unos años más tarde Isaac Newton publicó una hipótesis acerca de la necesidad de deslizamiento, lo que hoy en día se denomina ‘Viscosidad’, donde decía ‘La resistencia derivada de la falta de deslizamiento de las partes de un líquido es proporcional a la velocidad con que se separan unas de otras dentro de él’ (Ramirez, 2006).

La tensión o esfuerzo de cizalla ( $\sigma$ ) es la fuerza por unidad de área ( $F/A$ ) necesaria para el movimiento de un fluido. Según Newton la tensión de cizalla o esfuerzo cortante es proporcional al gradiente de velocidad ( $dv/dy$ ), denominado como  $\gamma$ .

$$\tau = \mu \frac{dv}{dy} = \mu \times \gamma \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde ‘ $\tau$ ’ es la fuerza aplicada por unidad de superficie o esfuerzo cortante (mPa),  $\mu$  es la viscosidad dinámica (mPas) y  $\gamma$  es la velocidad de deformación o gradiente de velocidad ( $s^{-1}$ ). La cizalla de un fluido se representa en la Figura 3.

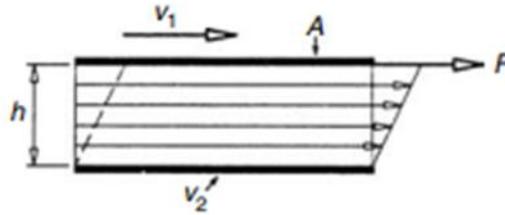


Figura 3. Representación de cizalla en un fluido. Donde  $v_1$  es la velocidad en el plano superior,  $v_2$  es la velocidad en el plano inferior,  $A$  es el área de la superficie del plano,  $F$  la fuerza y  $h$  la distancia entre los planos (Becket, 2009).

En esta época apareció la Ley de Hooke que fue de aplicación para el estudio de la reología de sustancias sólidas donde decía que, si se aplica una carga  $\sigma$  sobre un sólido, éste va a sufrir una cierta deformación  $\gamma$ . El valor de dicha deformación se mantendrá hasta que cese el esfuerzo aplicado.

$$\sigma = G \times \gamma \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde  $\sigma$  es el esfuerzo cortante (Pa),  $G$  el módulo de Young o de elasticidad (Pa) y  $\gamma$  % de deformación.

Hasta el siglo XIX estas leyes eran increbrantables en la reología. En este momento comenzó la inquietud acerca de la validez universal de ambas leyes. Por ejemplo, en 1867, J.C. Maxwell en su artículo ‘Sobre la teoría dinámica de los gases’, propuso un modelo matemático para describir los fluidos que poseen propiedades elásticas. A esto se le denominó ‘viscoelasticidad’.

$$\sigma = \beta \times \gamma \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde  $\beta$  es un parámetro similar al módulo de rigidez,  $\sigma$  es el esfuerzo cortante y  $\gamma$  es el porcentaje (%) de deformación.

Con el tiempo fueron surgiendo modelos que asumieron que el módulo de rigidez puede variar con la tensión aplicada (Doraiswamy, 2002) (Ramirez, 2006). En el siglo XIX, por ejemplo, Navit y Stokes desarrollaron una ecuación para el movimiento de un fluido viscoso (Nakayama & Boucher, 1999). Los antecedentes históricos de la reología resumidos se pueden observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Evolución histórica del estudio de la reología (Tabla extraída de Ramirez, 2006).

<b>ÉPOCA</b>	<b>MODELOS</b>		<b>TRABAJOS REPRESENTATIVOS</b>
s. XVII	Material ideal	Cuerpo rígido	Arquímedes, Newton (1687)
s. XVIII		Sólido elástico	Hooke (1678), Young (1807)
s. XVIII – XIX		Fluido de Pascal	Pascal (1663), Bernouilli (1738), Euler (1755)
		Líquido newtoniano	Newton (1687), Navier (1823), Stokes (1845), Hagen (1839), Poiseuille (1841)
Mediados s. XIX	Viscoelasticidad lineal	Teoría tridimensional para describir líquidos newtonianos	Navier – Stokes
		Experimentos con hilos de seda (elementos asociados a la respuesta de un líquido)	W. Weber (1835)
		Elementos asociados a la respuesta de un sólido	J.C. Maxwell (1867)
		Viscoelasticidad lineal	Poynting & Thomsom (1902)
s. XIX – s. XX	Líquidos newtonianos generalizados		Trouton & Andrews (1904), Bingham (1922), Ostwald (1925), De Waele (1923), Herschel-Bulkley (1926)
1929	Nacimiento de la Reología		Bingham, Reiner, otros
s. XX	Viscoelasticidad no lineal		Poynting (1913), Zaremba (1903), Jaumann (1905), Hencky (1929)
	Número de Deborah, De		M. Reiner (1945)
	Modelos que describen la curva de flujo		Sisko (1958), Cross (1965), Carreau (1972)
	Descripción clave de materiales	Suspensiones Newtonianas	Einstein (1906), Krieger-Dougherty (1959), Quemada (1982), De Kruif (1982), Barnes (1981), Farris (1968)
		Suspensiones no Newtonianas	Krieger (1972)
		Polímeros	Baekeland (1909), Staudinger (1920)
		Viscosidad extensional	Trouton (1906), Tamman & Jenckel (1930)

### 2.2.2. Conceptos reológicos

Como ya se ha comentado, la reología es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de los materiales. La deformación se define como el cambio en el tamaño o forma de un cuerpo debido a esfuerzos internos producidos por una o más fuerzas aplicadas sobre el mismo o, dicho de otra manera, cuando se le somete a tensión. A cada tensión o esfuerzo aplicado le corresponde una deformación. Los esfuerzos aplicados pueden ser de tipo extensional, de cizalla o de compresión (Ramirez, 2006). Ver Figura 4.

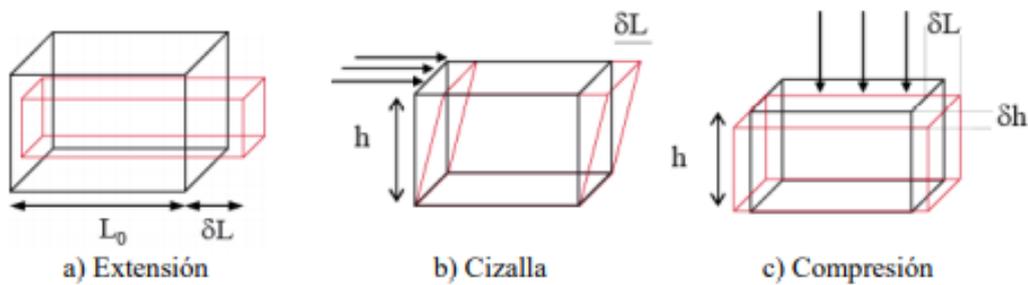


Figura 4. Tipos de deformaciones. A. Deformación extensional. B. Deformación por cizalla. C. Deformación por compresión (Ramirez, 2006).

En relación con la deformación tenemos la elasticidad la cual, de acuerdo con la teoría de Hooke, cuando se le aplica un esfuerzo a un sólido se produce una deformación instantánea proporcional al esfuerzo aplicado. Cuando desaparece el esfuerzo, el sólido recupera instantáneamente su posición inicial. Si bien, no todos los materiales recuperan su forma inicial cuando se elimina la deformación (Nakayama & Boucher, 1999) (Ramirez, 2006). Según esto, podemos distinguir tres casos representados en la Figura 5.



Figura 5. Curvas de esfuerzo-deformación. A. Materiales elásticos lineales. B. Materiales elásticos no lineales. C. Materiales elastoplásticos (Ramirez, 2006).

Un material elástico lineal sigue la ley de Hooke, mientras que un material elástico no lineal, no. En el caso de materiales elastoplásticos la deformación depende de la cizalla aplicada, según la cual si se supera un umbral límite de esfuerzo se produce una deformación permanente. En este último caso la muestra comenzaría a fluir comportándose como un líquido y siguiendo la ley de Newton (Morés & Treviño, 2010).

La viscosidad es la resistencia de ciertas sustancias a fluir. Cuando un esfuerzo aplicado sobre un material es mayor que el límite de resistencia de este, el material sufre una deformación y comienza a fluir. La viscosidad es la relación entre el esfuerzo y la velocidad de cizalla. La unidad de medida de la viscosidad en el SI es el Pa.s. Sin embargo, en los últimos años es frecuente usar el Poise (P), que equivale a  $1 \text{ mPas} = 1 \text{ cP}$ . Se conoce más de un término para denominar la viscosidad, entre los que destacan la viscosidad aparente y la viscosidad cinemática (Beckett, 2009).

### 2.2.3. Fluidos

Un flujo es la deformación continua, generada por la aplicación de un esfuerzo cortante. Los fluidos pueden ser de dos tipos dependiendo de su comportamiento:

- Fluidos newtonianos – la viscosidad es proporcional a la velocidad de cizalla. Siguen la ley de Newton.
- Fluidos no newtonianos – la viscosidad no es proporcional a la velocidad de cizalla. En estos puede ocurrir que su comportamiento dependa del tiempo (Tixotropía). Los factores que afectan a la viscosidad en este tipo de fluidos son: la velocidad de cizalla, la temperatura y la presión. (Nakayama & Boucher, 1999)

Para representar el comportamiento de un flujo se puede hacer mediante curvas de flujo y curvas de viscosidad. En las curvas de flujo se representa gráficamente el esfuerzo de cizalla o shear stress ( $\tau$ ) en función de la velocidad de cizalla o shear rate ( $D$ ). En las curvas de viscosidad se representa la viscosidad en función de la velocidad de cizalla ( $\tau$ ). En la Figura 6 se observa el comportamiento de los flujos mediante la representación de estas curvas.

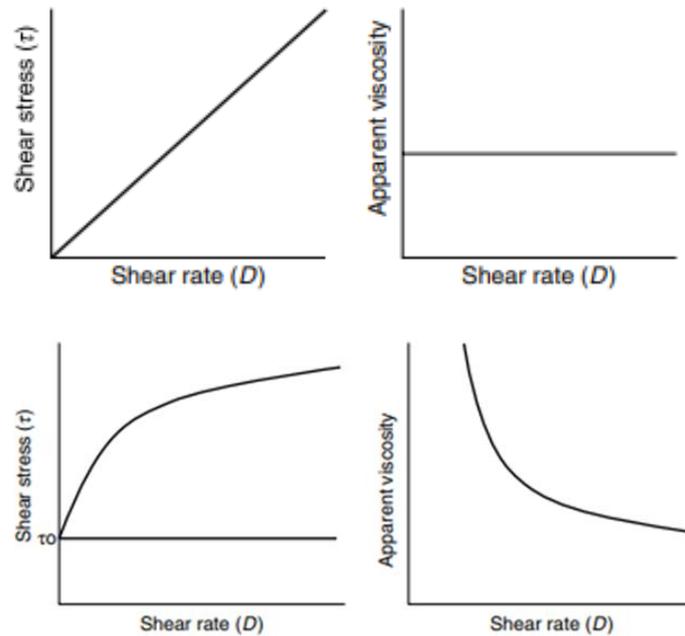


Figura 6. Curvas de flujo y viscosidad. A. En la parte superior se observan las curvas para un fluido newtoniano B. En la parte inferior para un fluido no newtoniano (Beckett, 2009).

En la Figura 6A la fuerza que se aplica se relaciona directamente con la velocidad a la que se mueve el fluido, por lo que la viscosidad es la misma en todas las velocidades de cizallamiento y el fluido es newtoniano.

En los líquidos no newtonianos, como el chocolate, representados en la Figura 6B se observa que la viscosidad no es proporcional a la velocidad de cizalla. Se necesita un esfuerzo de cizalla mínimo a partir del cual comienza el flujo (Beckett, 2009).

Los alimentos que exhiben un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento dependiente del tiempo exhiben un comportamiento de flujo tixotrópico. La mayoría de los alimentos que presentan un comportamiento tixotrópico son sistemas heterogéneos que contienen una fase dispersa. En reposo las partículas o moléculas de estos alimentos están unidas por fuerzas débiles. Cuando las fuerzas hidrodinámicas durante el cizallamiento son suficientemente altas, los enlaces entre las partículas se rompen resultando en una reducción del tamaño de las unidades estructurales que a su vez ofrecen menor resistencia al flujo durante el cizallamiento (Rao, 1999). El comportamiento tixotrópico de un alimento se encuentra representado en la Figura 7.

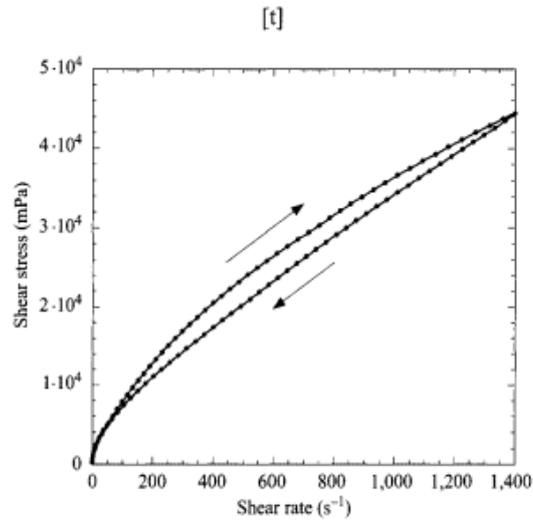


Figura 7. Comportamiento tixotrópico (Beckett, 2009).

#### 2.2.4. Instrumentación

La instrumentación utilizada para estudiar las propiedades reológicas de los fluidos son los viscosímetros o los reómetros. Los primeros tienen ciertas limitaciones como que la medida debe ser en régimen laminar, mientras que los reómetros son mucho más precisos. En este proyecto nos centraremos en explicar las características de los diferentes reómetros por ser más representativos. Los reómetros son instrumentos que se utilizan para medir las características de comportamiento del flujo de un material (Glicerina et, al., 2017) y se clasifican en grandes grupos:

- CS (Controlled Stress) o esfuerzo controlado. En este tipo de reómetro se fija un determinado esfuerzo y se mide la velocidad de cizalla. Se utiliza, por ejemplo, para condiciones de flujo generadas por sedimentación.
- CR (Controlled Rate) o velocidad controlada. En este tipo de reómetro se fija una velocidad de cizalla y se mide el esfuerzo que esta supone. Se utiliza, por ejemplo, en condiciones de flujo impuestas por medios externos como bombas o mezcladoras.
- Oscilatorio. En este tipo de reómetro se aplica una deformación que varía sinusoidalmente por lo que genera información sobre la frecuencia en rad/s. Mide la resistencia a la oscilación.

- Rotacional. En este tipo de reómetros la geometría unida al eje gira en un sentido. Este giro dependerá si el reómetro es de tipo CS, CR o ambos. Según como se produce el movimiento relativo a las partes que componen el sensor de medida se tienen dos sistemas: Searle, en el que la pieza interior gira o Couette, en el que la pieza exterior gira. Con este tipo de reómetro se evalúan curvas de flujo y viscosidad, además de poder conocer parámetros como la tixotropía (Morés & Treviño, 2010).

### 2.2.5. Modelos reológicos

En los reómetros se representan los datos obtenidos en un reograma en el cual a través de modelos reológicos, se ajustan los datos. Los modelos reológicos más utilizados para representar el comportamiento de los fluidos alimentarios son los siguientes: Bingham y Casson.

- **Modelo de Bingham** (Bingham, 1922)

Es el modelo más utilizado en mecánica de fluidos debido a la sencillez de las ecuaciones.

$$\tau = \tau_0 + \eta \dot{\gamma} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde “ $\tau$ ” es el esfuerzo cortante, “ $\tau_0$ ” es el estrés de rendimiento o límite de fluencia, “ $\eta_p$ ” es la viscosidad plástica y “ $\dot{\gamma}$ ” es la velocidad de deformación

El material no fluye hasta que no se aplica un esfuerzo superior al umbral  $\tau_0$ .

- **Modelo de Casson** (Casson, 1959)

Es un modelo basado en estructuras definido por la siguiente ecuación:

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\tau_{ca}} + \sqrt{\mu_{ca}} \times \sqrt{\dot{\gamma}} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde  $\tau$ : tensión de rendimiento;  $\tau_{ca}$ : Casson yield stress;  $\mu_{ca}$ : viscosidad de Casson; y  $\dot{\gamma}$ : tasa de cizalladura.

Este modelo se introdujo originalmente para caracterizar las suspensiones de tinta de impresión aplicándose más tarde a una serie de dispersiones de alimentos, hasta que en 1973 la ICA (Asociación Internacional de Confitería) lo recomendó como modelo de estudio del chocolate (Glicerina et al., 2017).

### **2.3.REOLOGÍA DEL CHOCOLATE**

Como ya se ha comentado, el chocolate es una suspensión de partículas no grasas (azúcar, cacao, y a veces, partículas de leche), dispersas en una fase continua de manteca de cacao. Los chocolates fundidos son una densa mezcla de sacarosa recubierta de fosfolípidos y partículas de cacao (Beckett, 2009) (Afoakwa et al., 2007 & 2008).

La calidad del chocolate depende de las técnicas de procesamiento y de los ingredientes utilizados, ya que esto influye sobre la percepción sensorial y las propiedades reológicas (Konar, 2013) (Fribianto et al., 2021) (Afoakwa et al., 2008). Por tanto, las propiedades de flujo de chocolate son importantes para el control de calidad del producto. Por ejemplo, un chocolate con una viscosidad elevada, al procesarlo formará burbujas que pueden hacer difícil su procesamiento (Gonçalves & Lannes, 2010).

El chocolate fundido es un líquido no newtoniano exhibiendo un comportamiento no lineal con un límite elástico o de fluencia, definido como la energía requerida para iniciar el flujo, y una viscosidad plástica o aparente, energía necesaria para mantener el fluido en movimiento (Afoakwa et al., 2009). Sin las partículas no grasas dispersas, la manteca de cacao tendría una viscosidad simple a cualquier velocidad de flujo, es decir, sería newtoniana (Beckett, 2009).

En la Figura 6B se representa el comportamiento del flujo del chocolate. La viscosidad no es proporcional a la velocidad de cizalla. Se necesita un esfuerzo de cizalla mínimo a partir del cual comienza el flujo (Beckett, 2009).

Durante todas las etapas del procesamiento del cacao se van desarrollando las propiedades reológicas deseadas. Las etapas de procesamiento son operaciones tecnológicas que reducen el tamaño de partícula, inducen la ruptura de aglomerados, lípidos y la distribución de partículas recubiertas de lecitina a través de la fase continua, modificando la microestructura del chocolate final. La etapa que más influye en las propiedades reológicas es el conchado (Glicerina et al., 2017). Otros factores que afectan a las propiedades reológicas son el porcentaje de grasa, la distribución del tamaño de partículas, el contenido de humedad, la temperatura y los emulgentes (Gonçalves & Lannes, 2010) (Afoakwa et al., 2008).

### 2.3.1. Instrumentación y modelos

Las propiedades reológicas del chocolate se miden utilizando reómetros, ya que es el método más preciso. Estudios como el de Ashok et al., (2014), Afoakwa et al., (2008), Gotz et al., (2005), Schantz & Rohm (2005) utilizan este instrumento de medida para muestras de chocolate.

Desde 1973, la ICA ha aceptado la medición reológica del chocolate fundido usando viscosímetros rotacionales con cilindros concéntricos (geometría de bob y copa). En el año 2000, el ICA (Asociación Internacional de Confitería) recomendó la medición del límite y la viscosidad a tasas de cizalladura entre 2 y 50 s<sup>-1</sup> utilizando curvas arriba y abajo en velocidad de cizalladura precedida por una pre-cizalladura a 5 s<sup>-1</sup> con una duración de 5 minutos usando el modelo de Casson (Afoakwa et al., 2008 & 2009).

Los modelos que se han utilizado para caracterizar la reología del chocolate incluyen el Herschel-Bulkley, Casson y Bingham (Afoakwa, 2009). El modelo por excelencia para el estudio del chocolate es el de Casson, como ya se ha comentado anteriormente. Afoakwa et al. (2009) investigaron la relación entre el modelo de Casson y las recomendaciones de ICA para las mediciones reológicas.

Según Beckett 2009, la muestra de chocolate a analizar debe ser representativa. Para ello se ha de remover completamente la muestra antes de que sea tomada. Las propiedades reológicas se han de medir a 40 °C, debido a que a temperaturas inferiores (35 °C) el chocolate comienza a cristalizar, lo que provoca que las propiedades sean inestables y a temperaturas por encima de 45 °C las reacciones de proteínas dentro de la leche pueden hacer que se produzca un espesamiento, especialmente a velocidades de cizallamiento bajas. Si la muestra está sólida debe calentarse en una estufa a 50 °C para eliminar todos los cristales de grasa. Cualquier humedad espesará el chocolate por lo que la medición debe hacerse en condiciones secas. Si en ese momento no se va a realizar la medición es preferible almacenar la muestra en estado sólido y volver a fundirla, ya que, si no, puede producirse el espesamiento de la muestra. El chocolate es un mal conductor del calor por lo que debe ser revuelto entre 18 y 60 s y agitado antes de proceder a la medición.

### 2.3.2. Factores que afectan a las propiedades reológicas

- Distribución del tamaño de partícula

La proporción volumétrica de partículas es uno de los factores más importantes que influyen en las propiedades reológicas. Las partículas más grandes son importantes ya que dejan una sensación de arenosidad en la boca, mientras que las más pequeñas influyen en las propiedades de flujo (Afoakwa et al., 2008). Una reducción del tamaño de partícula implica un aumento de la superficie de contacto entre las partículas lo que contribuye a un aumento de los valores del límite de fluencia (Beckett, 2009).

Feichtinger et al., 2020 dedujo que la distribución del tamaño de partícula contribuye a cambios en la viscosidad, así como a otros parámetros reológicos como el límite de fluencia y la tixotropía.

- Porcentaje de grasa

La dilución de la suspensión de partículas en la fase continua del chocolate, como la manteca de cacao, reduce su viscosidad. Es decir, la disminución de la viscosidad aparente se produce a medida que el contenido de sólidos de grasa aumenta. Es la grasa libre la que permite que el chocolate fluya (Beckett, 1999 & 2009).

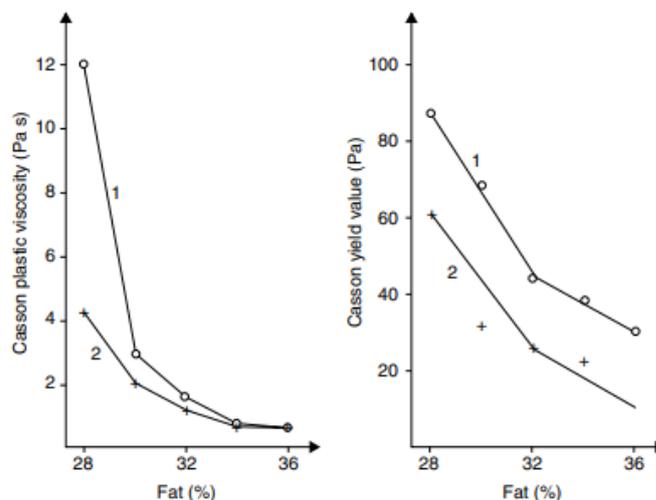


Figura 8. Influencia del contenido en grasa en los parámetros reológicos de Casson en dos chocolates con leche con un 0,25% de lecitina. (1) Chocolate fino con 5,7% de partículas  $> 20\mu\text{m}$ ; (2) chocolate moderadamente basto con 16% de partículas  $> 20\mu\text{m}$  (Chevalley, 1999).

En la Figura 8 se muestra el estudio de Chevalley, 1999 en la influencia del contenido de grasa en los parámetros de viscosidad y límite de fluencia de Casson. Demostró que el efecto sobre la viscosidad de cantidades de manteca adicionales tienen un efecto mucho mayor que contenidos de grasa bajos.

- Porcentaje de humedad

Cuando se añade agua al chocolate, la viscosidad aumenta notablemente, debido a que la humedad disuelve las partículas de azúcar o crea una especie de parches pegajosos en la superficie de estas que provoca un aumento de la viscosidad. Debido a este efecto, es muy importante reducir el contenido de humedad por debajo del 1% (Afoakwa, 2010). Este efecto es atenuado por la adición de fosfolípidos, por lo que los chocolates que contienen lípidos tensioactivos pueden tolerar niveles de agua superiores (Beckett, 2009). También, el conchado en seco ayuda a evaporar gran parte de la humedad (Saputro et al., 2019).

- Tiempo de conchado

Una concha es un mezclador que convierte la masa de chocolate en un líquido fluido a través de cizalladura y mezclado de los diferentes componentes. El conchado es fundamental, ya que determina el tamaño de partícula, la consistencia de la suspensión y la viscosidad con el fin de alcanzar a textura y percepción sensorial deseadas (Fribianto et al., 2021) (Afoakwa et al., 2007). Durante el conchado las partículas de sólidos como la pasta de cacao o el azúcar, se recubren de grasa de cacao o manteca de cacao (Fribianto et al., 2021) bajando el valor de la viscosidad (Glicerina et al., 2017).

Glicerina et al., 2013 & 2014, descubrieron que durante el conchado, el chocolate sufre modificaciones adicionales en términos de reducción del tamaño de partícula y límite de fluencia. A la vez que influye la adición de lecitina y manteca de cacao (Glicerina et al., 2017).

- Emulgentes

Un emulsionante o emulgente se define como una sustancia que reduce la tensión interfacial, debido a su adsorción en la interfaz de gotas de aceite (Flores-Andrade, 2020).

Las funciones de los emulsionantes alimentarios están relacionadas con las propiedades interfaciales y afectan la estabilidad o desestabilización de la emulsión. Además de modificar la cristalización de las grasas, interaccionar con componentes de carbohidratos, entre otras (Friberg, 2004). Los emulsionantes más utilizados en la industria alimentaria son pequeñas moléculas de tensioactivos sintéticos, es decir, ésteres de polioxietileno de ácidos grasos, y emulsionantes "naturales", es decir, proteínas anfifílicas, fosfolípidos y polisacáridos (Flores-Andrade, 2020).

Según el Reglamento 1130/2011 de la Comisión Europea, los emulgentes se incluyen dentro del grupo de aditivos, los cuales según la AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición), los aditivos son sustancias que se añaden intencionadamente a los alimentos con un propósito tecnológico.

Las lecitinas comerciales más comunes hoy en día, provienen del aceite de soja (Friberg, 2004), siendo la lecitina de soja el emulgente por excelencia usado en la fabricación de chocolate junto con el polirricinoleato de poliglicerol (PGPR). Su adición en las masas de chocolate influye directamente en las propiedades reológicas de estas (Schantz & Rohm, 2005).

La lecitina de soja (E-322) es un agente tensioactivo que se ha utilizado en el chocolate desde 1930. Químicamente, un extremo de la molécula es lipofílico, permaneciendo en contacto con la grasa, mientras que el otro extremo es lipofóbico adhiriéndose a partículas sólidas, principalmente el azúcar (Beckett, 2009). La estructura química de la lecitina de soja se representa en la Figura 9.

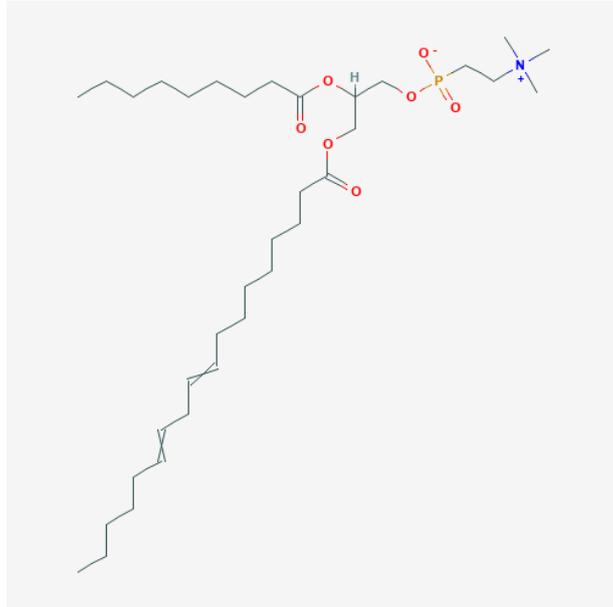


Figura 9. Estructura química de la lecitina de soja (National Center for Biotechnology Information (2021)).

El polirricinoleato de poliglicerol (PGPR), más conocido comúnmente como E-476 es un agente tensioactivo que se obtiene por esterificación parcial de ácidos condensados de aceite de ricino con poliglicerol. La estructura del PGPR se representa en la Figura 10. Proporciona ventajas industriales en la industria del chocolate como la prevención de la formación de burbujas de aire (Sözeri et. al, 2020).

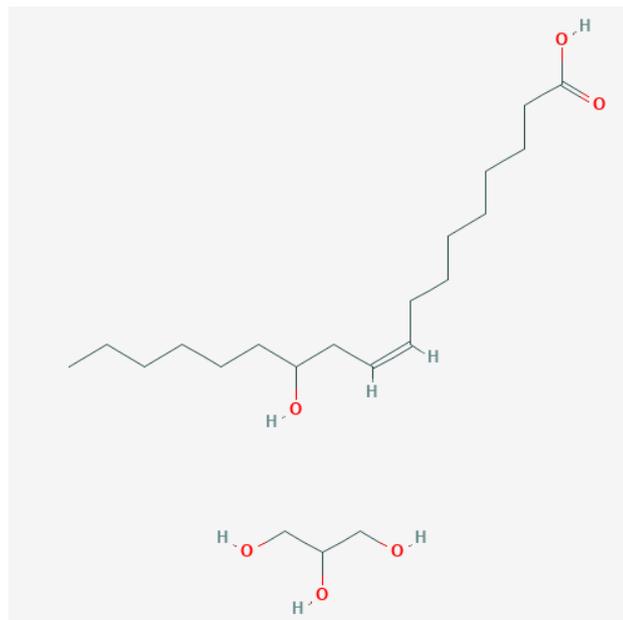


Figura 10. Estructura química del polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) (National Center for Biotechnology Information (2021)).

Los emulsionantes se han estudiado y utilizado a lo largo de los años para modificar las propiedades reológicas del chocolate. Gracias a su estructura molecular reducen la superficie de tensión entre la fase dispersa y la fase continua del chocolate (Schantz & Rohm, 2005) mediante la adsorción de las superficies hidrofílicas e hidrofóbicas como el azúcar. En concreto, el PGPR actúa como un espaciador entre las partículas de sacarosa reduciendo la interacción partícula-partícula aumentando la fluidez. La lecitina interacciona tanto con la fase dispersa como continua, interactuando los grupos fosfatidil hidrófilos con la superficie hidrofílica de la sacarosa, mientras que los ácidos grasos interactúan con la fase grasa continua (Sözeri et. al, 2020)

Según Chevalley (1999), la adición de lecitina en proporciones de 1-3g/kg de chocolate tiene el mismo efecto reductor de la viscosidad que diez veces esa cantidad agregada de manteca de cacao.

Estudios como el de Schantz y Rohm (2005) determinaron los efectos de la lecitina de soja y el PGPR sobre las propiedades reológicas de un chocolate oscuro y un chocolate con leche. Demostraron que, independientemente de la cantidad total de emulsionante, el límite de fluencia se reduce de manera eficaz aplicando mezclas de, aproximadamente, 30% de lecitina y 70% de PGPR. Los resultados obtenidos indicaban que era posible adaptar el límite de fluencia y la viscosidad del chocolate a requisitos específicos mediante el ajuste tanto de la proporción de mezcla como de la cantidad de emulsionantes. Sin embargo, otros estudios como Schuster (1985), Hofs & Taschke (2002) y Hasenhuettl & Hartel (2008) proponían diferentes proporciones de lecitina:PGPR, siendo 2:1, 3:1 y 2,5:1 respectivamente.

Uno de los últimos estudios es el de Sözeri et. al (2020) en el que afirma que el PGPR es más eficaz en la reducción del límite de fluencia. Sin embargo, el límite de fluencia se vio afectado negativamente con el aumento de PGPR.

Además de las proporciones de los emulgentes, también influye en las propiedades reológicas el efecto conjunto de estos con la etapa de conchado. La lecitina, al poseer una naturaleza hidrofílica, podría tener efectos negativos sobre la reducción de la humedad en el conchado. Por tanto, la adición de la lecitina suele tener lugar en las últimas etapas del conchado. A su vez, si se añadiese lecitina en las primeras etapas del conchado esta podría ser absorbida por las partículas de cacao y, por tanto, reducirse su efecto. Por otra parte,

la adición de lecitina en la fase húmeda del proceso de conchado tan pronto como sea posible puede ser ventajoso para lograr valores de viscosidad baja (Toker, 2019).

## **2.4.MICROESTRUCTURA**

Las respuestas reológicas se observan a nivel macroscópico. Sin embargo, están directamente afectadas por los cambios y propiedades a niveles microscópicos (Rao, 1999). Las relaciones entre los ingredientes presentes en el chocolate influyen en las propiedades microestructurales afectando a las propiedades reológicas (Schantz & Rohm, 2005). Autores como Afoakwa et al, 2008 observaron que es necesario intervenir a nivel microscópico si queremos mejorar la calidad del chocolate.

Para observar interacciones entre emulsionantes y partículas de azúcar a nivel microscópico se emplea microscopía de fuerza atómica (AFM). Esta técnica se basa en la medición de interacciones entre una punta afilada y la superficie de la muestra captando imágenes de la topografía de la superficie y pudiendo analizar propiedades como fuerzas de adherencia, propiedades magnéticas o cargas superficiales (Middendorf et al, 2015). Los primeros experimentos con AFM para determinar interacciones de emulsionantes se llevaron a cabo por Arnold & col, 2013b, donde demostraron la reducción de las interacciones de partículas en relación con experimentos de sedimentación de suspensiones de azúcar y aceite. También se menciona que las mediciones con AFM se caracterizan por desviaciones relativamente altas. Middendorf et al., 2015 caracterizó como se comportaba el PGPR en la microestructura del chocolate con este método.

Otra técnica empleada para el análisis microestructural del chocolate es la microscopía de barrido (SEM) (Delbaere et al., 2016) utilizándose en estudios como Sammons & Marquis, 1997. En general, numerosas técnicas de microscopía se han empleado para desgranar la microestructura del chocolate. Por ejemplo, Coutinho et al, 2019 utilizó un microscopio óptico en el que observo la composición de bebidas lácteas.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.Fabricaciones.**

Se emplearon cuatro fabricaciones industriales de un chocolate 48% (compuesto de un 48% de cacao mínimo) con un 0,3% de lecitina de soja y 0,2% de PGPR en su fórmula industrial. De una de esas fabricaciones se cogió, además, una muestra previa al conchado de emulgentes (F4SE). Todas las muestras fueron cogidas en la etapa de conchado directamente en cubos de 5 kilos.

Las fabricaciones fueron elaboradas en diferentes épocas del año. La primera fabricación fue producida en agosto (25.08.2020) (F1), la segunda en septiembre (29.09.2020) (F2), la tercera en noviembre (25.11.2020) (F3) y la cuarta en enero (20.01.2020) (F4).

Los cubos se mantuvieron a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis en el cual se introdujeron en una estufa ventilada con termostato regulable a 50°C. Una vez fundido el chocolate, el contenido de los cubos fue homogeneizado manualmente con el fin de evitar que quedase grasa decantada. Tras esto, mediante el uso de una báscula de precisión CB Complet (COBOS, España) se pesaron una cantidad de chocolate en un bote estéril de polipropileno (Deltalab) sobre la cual se añadieron las diferentes cantidades de emulgentes a ensayar, teniendo en cuenta que todas las fabricaciones tenían ya de base un 0,3% de lecitina de soja y 0,2% de PGPR, salvo la muestra previa a la adición de emulgentes F4SE. A continuación, el chocolate y los emulgentes se mezclaron de manera manual con ayuda de una espátula de laboratorio durante un minuto, para que los emulgentes estuviesen en la misma proporción en todo el volumen de chocolate. Las muestras preparadas se pueden ver en la Tabla 2.

De acuerdo con los ensayos previos se usaron concentraciones de emulgentes que no eran extremas. Es decir, estudios como el de Schuster (1985), Hofs & Taschke (2002) y Hasenhuettl & Hartel (2008) proponían diferentes proporciones de lecitina:PGPR, siendo 2:1, 3:1 y 2,5:1 respectivamente. En este proyecto se somete a las muestras a proporciones de PGPR por lecitina muy superiores a los ensayos previos con el fin de observar cómo se comporta el chocolate a estas concentraciones simulando un procesado industrial donde el empleo de estos emulgentes es una de las partes críticas en la fabricación de chocolate para conseguir las propiedades reológicas adecuadas.

Los emulgentes empleados fueron lecitina de soja (Soya International) y PGPR (Lasenor Emul, S.L.). Ver en Anexo 1 la ficha técnica de los emulgentes.

*Tabla 2. Resumen de las muestras preparadas. Los % de emulgentes indicados se expresan como los añadidos a las fórmulas base de las fabricaciones indicadas, siendo en todas un 0,3% de lecitina y un 0,2% de PGPR excepto en la F4SE.*

<b>FABRICACIONES</b>	<b>MUESTRAS</b>						
<b>F1, F2, F3 y F4</b>	0.0% L	0.0% L	0.0% L	0.0% L	0.0% L	0.0% L	
	0.0% P	0.1% P	0.15% P	0.2% P	0.4% P	0.6% P	
<b>F4SE</b>	0.0% L	0.3% L	0.3% L	0.3% L	0.3% L	0.3% L	0.3% L
	0.0% P	0.2% P	0.3% P	0.35% P	0.4% P	0.6% P	0.8% P

F1: Primera fabricación. F2: Segunda fabricación. F3: Tercera fabricación. F4: Cuarta fabricación. F4SE: Cuarta fabricación previa al conchado de los emulgentes. L: Lecitina de soja. P: PGPR.

### **3.2.Determinación del porcentaje de humedad (%).**

El *Codex Alimentarius* garantiza alimentos inocuos y de calidad a todas las personas y en cualquier lugar. Las normas alimentarias, directrices y códigos de prácticas internacionales del Codex contribuyen a la inocuidad, la calidad y la equidad en el comercio internacional de alimentos. Los consumidores pueden confiar en que los productos alimentarios que compran son saludables y de calidad, y los importadores, en que los alimentos que han encargado se ajustan a sus especificaciones (FAO, 2021). Según el CODEX STAN 87-1981 para el chocolate y los productos del chocolate, revisado en 2003, la determinación de la humedad se realiza por el método de Karl Fischer o por gravimetría. En este proyecto se utilizó el método por gravimetría descrito a continuación.

Se introdujeron cápsulas de vidrio con arena de mar para análisis (PanReac AppliChem) en una estufa ventilada (P-Selecta) durante una hora a 105 °C para extraer la humedad que pudiese contener. Transcurrido ese tiempo, las cápsulas se sacaron de la estufa y se colocaron en un desecador de vidrio durante media hora con el objetivo de proteger a la arena de la captación de humedad del ambiente. Una vez alcanzada la temperatura

ambiente, las cápsulas se sacaban del desecador, se taraban y se pesaba en ellas una cantidad de muestra de chocolate equivalente, aproximadamente, a una tercera parte de la arena contenida en la cápsula. Inmediatamente después se volvían a introducir las cápsulas, con la muestra, a la estufa durante cuatro horas a 105 °C. A continuación, las muestras fueron retiradas de la estufa y enfriadas en el desecador, y finalmente, las cápsulas fueron pesadas y el porcentaje de humedad del chocolate se obtuvo en cada caso tras aplicar la Ecuación 6.

$$\% \text{ humedad} = \frac{(PV+PM)-PF}{PM} \times 100 \quad \text{Ecuación 6.}$$

Donde ‘PV’ es el peso de la cápsula con la arena en gramos, ‘PM’ es el peso de la muestra en gramos y ‘PF’ es el peso de la cápsula con arena y la muestra en gramos tras haber estado cuatro horas en la estufa a 105°C.

### **3.3.Determinación del porcentaje de grasa total (%).**

Se determinó el % de grasa para cada una de las cuatro fabricaciones industriales, es decir, las fabricaciones de chocolate según su fórmula industrial con un 0,3% de lecitina y un 0,2% de PGPR. También se determinó el % de grasa para la cuarta fabricación, previa adición de emulgentes (F4SE) y para esta con 0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR adicionados y mezclados manualmente a la cual se denominó F4SE.M.

Según el CODEX STAN 87-1981 para el chocolate y los productos del chocolate, revisado en 2003, la determinación de grasa total se lleva a cabo mediante el método AOAC 963.15 o método Soxhlet el cual se describe a continuación.

Se pesaron entre 3 – 4 gramos de muestra homogeneizada en un en un vaso de precipitado y se añadió 45 ml de agua destilada y 55 ml de ácido clorhídrico (HCL) 0,1M al 25% p/p. Se introdujo un imán, se cubrió el vaso con un vidrio de reloj y se procedió a su agitación en un agitador magnético con el fin de hidrolizar la muestra. En el momento que las muestras entraron en ebullición se dejaron agitar 10 minutos más y posteriormente se retiraron y se esperó a que estuviesen a temperatura ambiente. Una vez a temperatura ambiente, las muestras se filtraron mediante el uso de un embudo y se enrasó el permeado hasta los 300 ml. También se lavó el vidrio de reloj con agua destilada para recoger toda la muestra y filtrarla. La muestra, ya filtrada, se introducía en una estufa ventilada a 105

°C durante 24 horas para secarla. Una vez que se tenía la muestra seca, se pesó un pocillo en la báscula de precisión CB Complet (COBOS, España), se introdujo la muestra completamente seca en un cartucho de celulosa y se realizó la extracción de grasa en un extractor Soxhlet utilizando éter de petróleo como disolvente orgánico. Se aplicó la Ecuación 7 en cada caso para obtener el % de grasa.

$$\% \textit{grasa} = \frac{P_f - P_v}{P_m} \times 100 \quad \textit{Ecuación 7.}$$

Donde ‘P<sub>f</sub>’ es el peso del pocillo y la grasa extraída y depositada en este, ‘P<sub>v</sub>’ es el peso del pocillo y ‘P<sub>m</sub>’ es el peso de la muestra.

### **3.4. Determinación del tamaño de partícula.**

Se determinó la distribución de tamaño de las partículas medias (*particle size distribution*, PSD) para cada una de las cuatro fabricaciones industriales, es decir, las fabricaciones de chocolate según su fórmula original con un 0,3% de lecitina y un 0,2% de PGPR. También se analizó para la cuarta fabricación industrial sin el añadido de emulgentes que lleva la fórmula base (F4SE) y para esa misma fabricación con un 0,3% de lecitina y un 0,2% de PGPR añadidos y mezclados manualmente en el laboratorio (F4SE.M).

Para la distribución del tamaño de partícula (PDS) existen diversos estudios donde se analiza este parámetro como Afoakwa et al., (2008) y Feichtinger et al. (2020) en los cuales la muestra se dispersa en un baño de ultrasonido para posteriormente utilizar una unidad de medida de partícula como el Malvern para analizar los parámetros de distribución.

En este proyecto se añadió 1 g de muestra a 80 ml de isopropanol en un bote estéril de polipropileno, y esta mezcla se dispersó utilizando un baño de ultrasonido Sonopuls HD 2070 con una potencia de 230V durante 5 minutos. El tamaño de partículas que permanecían en la dispersión resultante fue medido utilizando un equipo Mastersizer 2000 (Malvern), un analizador de tamaño de partícula. En la Figura 11 se muestra una unidad de medida Mastersizer 2000 (Malvern, Reino Unido) y en la Figura 12 la unidad de dispersión. Las muestras se analizaron por duplicado.



*Figura 11. Unidad de medida Mastersizer 2000E (Malvern Panalytical, 2021).*



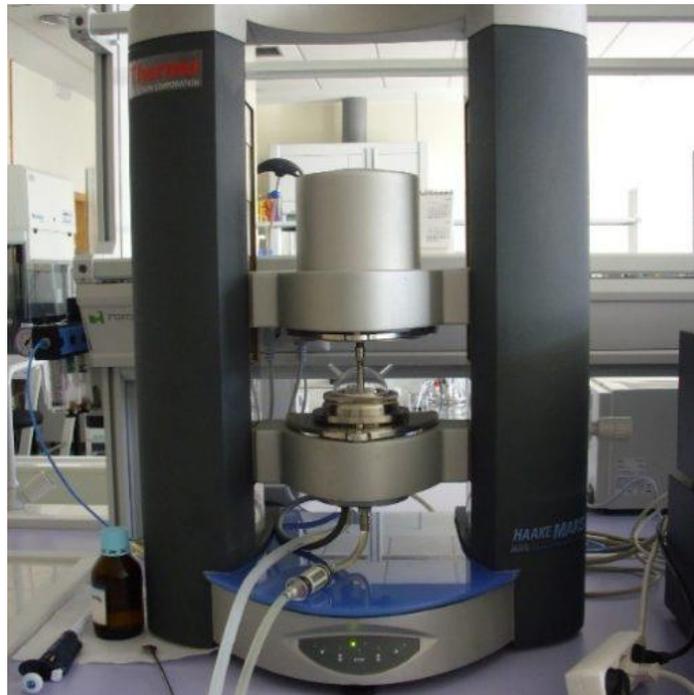
*Figura 12. Unidad de dispersión utilizada para las muestras (Malvern Panalytical, 2021).*

### **3.5. Determinación de las propiedades reológicas.**

Se evaluó el comportamiento reológico del chocolate por la adición de emulgentes. En concreto se evaluó el efecto de la lecitina de soja y el PGPR sobre el chocolate 48%. Las muestras, una vez preparadas como se describe anteriormente, se metieron en la estufa a 50°C (Mettler) hasta que estuvieron completamente fundidas. Los ensayos por muestra se realizaron por triplicado. Entre ensayos la muestra se introducía de nuevo en la estufa.

Como se comentó anteriormente el uso de reómetros rotacionales es un método que ha sido empleado por muchos autores para estudiar las propiedades reológicas del chocolate. En este proyecto se utilizó un reómetro rotacional Haake Mars II (Thermo – Scientific, Estados Unidos) (Figura 13), utilizando la sonda y el plato PP60ti y una anchura de

rendija de 1 mm. En la Tabla 3 se muestran las condiciones empleadas en los ensayos para obtener las curvas de flujo, las cuales son los estándares establecidos por la ICA.



*Figura 13. Reómetro rotacional Haake Mars II.*

*Tabla 3. Condiciones de trabajo del reómetro rotacional.*

	Modo	Esfuerzo de cizalla ( $s^{-1}$ )	Tiempo (s)	Temperatura ( $^{\circ}C$ )
1	CS	-	300	40
2	CR	5,000	300	40
3	CR	2,000 – 50,00	180	40
4	CR	50,00	60	40
5	CR	50,00 – 2,000	180	40

Donde el modo CS es un modo de esfuerzo controlado, donde se mide la velocidad de cizalla a un esfuerzo de cizalla dado y el modo CR es un modo de velocidad controlada, donde se asigna una velocidad de cizalla y se mide el esfuerzo originado.

A partir de las condiciones de trabajo del reómetro se obtuvieron las curvas de flujo. Gracias a éstas se pudieron hacer regresiones para los modelos de Casson y Bingham y

así obtener el límite de fluencia y la viscosidad para cada muestra. También se analizó la tixotropía utilizando el área de las curvas.

### **3.6. Determinación de la microestructura.**

Para la caracterización de la microestructura del chocolate se utilizó tanto microscopía electrónica como microscopía de fluorescencia.

Se empleó un microscopio electrónico de barrido o SEM (*Scanning Electron Microscope*) JEOL-6610LV (Figura 14) con microanálisis de la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Oviedo. Este microscopio dispone de un cañón de electrones de wolframio, con posibilidad de trabajo de 0,5 a 30 kV y una resolución máxima de 3.0 nm. Con aumentos desde x 5 hasta x 50.000. Puede trabajar en modo de alto vacío para máxima resolución y de bajo vacío para muestras con humedad o de superficie no conductora. Está dotado de detectores de electrones secundarios y de electrones retrodispersados. Está totalmente informatizado a través de un ordenador. (Universidad de Oviedo, 2021).



*Figura 14. Microscopio electrónico de barrido JEOL-6610LV (Universidad de Oviedo, 2021).*

Las muestras para analizar en el SEM requirieron un tratamiento previo. Se empleó la técnica descrita por Tan & Balasubramanian (2017) homogeneizando 5 gramos de muestra y diluyendo en 100 ml de 2-Propanol o isopropanol, al 98% de alcohol. Esta mezcla se puso en un agitador magnético y mediante el uso de un imán se agitó durante 20 minutos a 500 rpm hasta que el residuo adquirió un color blanquecino. Tras esto se filtró al vacío, con ayuda de isopropanol, usando un papel de filtro de 20  $\mu\text{m}$  hasta que quedo el residuo en éste. El residuo se rascó y se depositó en un bote estéril de polipropileno, el cual se dejó abierto durante 48 horas para que evaporase el isopropanol residual que pudiese contener la muestra. Una vez en la Unidad de Microscopía Electrónica las muestras se cubrieron de oro y se procedió a su análisis.

Se empleó un estereomicroscopio de fluorescencia Leica M205FA (Figura 15) semiautomático de la Unidad de Microscopía Fotónica y Proceso de Imágenes de la Universidad de Oviedo para estudios de transmisión (contraste y relieve), reflexión y fluorescencia. La lente óptica puede trabajar a 1x, 2x y 5x con zoom de 0.7 a 20.5x. Posee una luz de reflexión por anillo de LED con iluminación  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  o anillo completo. Dispone de tres bloques de filtros UV, GFP y DsRed usándose los tres para objetivos 1x y 2x, y empleándose GP y DsRed para el objetivo 5x. El equipo dispone de una cámara digital de color, Leica DFC310FX con una resolución máxima de 1392x1040 pixels. (Universidad de Oviedo, 2021)



*Figura 15. Estereomicroscopio de fluorescencia Leica M205FA (Universidad de Oviedo, 2021)*

Para el análisis de las muestras se requirió que éstas estuvieran sólidas para poder observar la superficie del chocolate. Se cortó un trozo de chocolate y se colocó en un portaobjetos para su análisis. Se trabajó con un objetivo 5x usándose los filtros de fluorescencia GP y DsRed. Para la adquisición de imágenes se empleó el programa Leica Application Suite (LAS) versión 4.0.0.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Caracterización básica de las diferentes fabricaciones de chocolate**

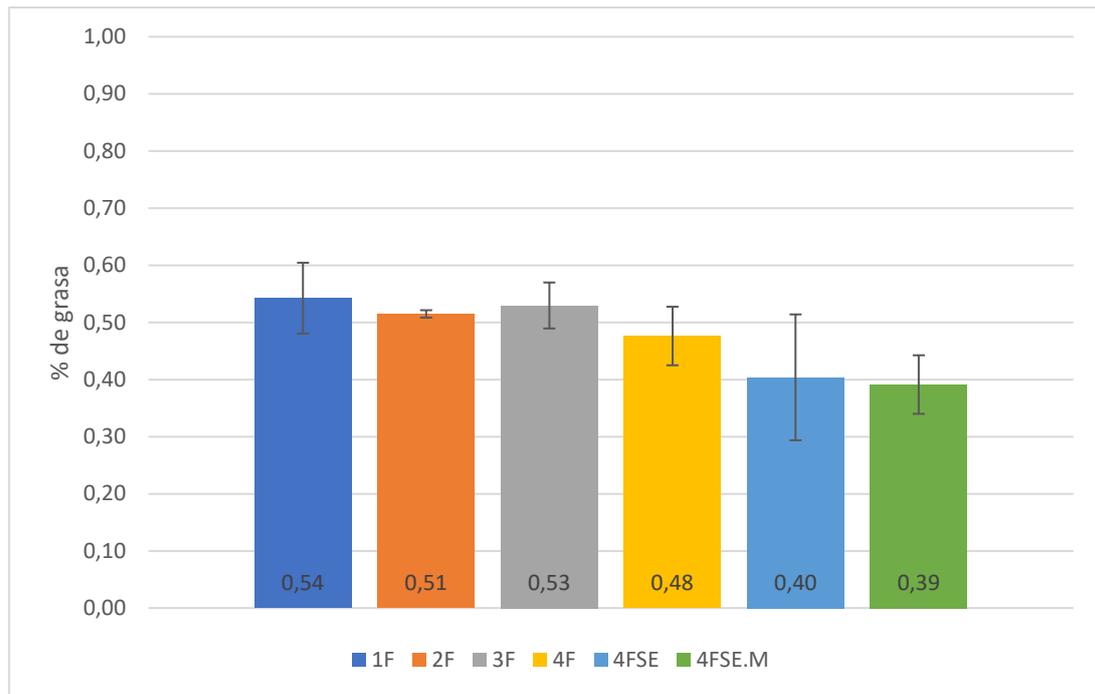
En este apartado se recogen los resultados del análisis de porcentaje de humedad y de grasa, así como la microestructura y distribución de tamaño de las partículas de chocolate de las diferentes muestras, es decir, teniendo en cuenta su fabricación de base tal y como se detalló en la sección 3.1, (F1, F2, F3 y F4 con un 0,3% de lecitina de soja y un 0,2% de PGPR), se recoge a continuación. Además, también se tuvieron en cuenta las muestras F4SE y F4SE.M, siendo la primera una muestra previa a la adición de emulgentes de F4 y la segunda la adición y mezclado manual de 0,3% de lecitina de soja y 0,2% de PGPR sobre F4SE.

#### **4.1.1. Porcentaje de humedad**

Las muestras se analizaron por triplicado, obteniéndose los resultados que se muestran en la Figura 16.

El porcentaje de humedad o contenido en agua es uno de los factores que influyen directamente en las propiedades reológicas. En los resultados representados en la Figura 16, no se observan grandes diferencias entre unas fabricaciones y otras, así como tampoco entre medidas de una misma muestra. Todas las muestras tienen menos de un 1% de humedad lo que va en línea con lo estipulado por Afoakwa, 2010. Por otro lado, Kleinert (1997) demostró que la reducción de humedad por debajo de 0,6% no causaba cambios significativos en las propiedades de flujo del chocolate, por lo que la humedad de las diferentes fabricaciones de este proyecto debería de afectar a las propiedades reológicas de las fabricaciones. Tampoco se observa efecto de la adición de emulgentes sobre el contenido de humedad.

Las pequeñas variaciones entre las cuatro fabricaciones pueden deberse a diferencias en la humedad ambiental, ya que en verano la humedad ambiental en Asturias es alta mientras que a medida que entra el invierno se va atenuando. Esto explicaría que 1F, producida en agosto, tenga un % de humedad más elevado que 4F, producida en enero.

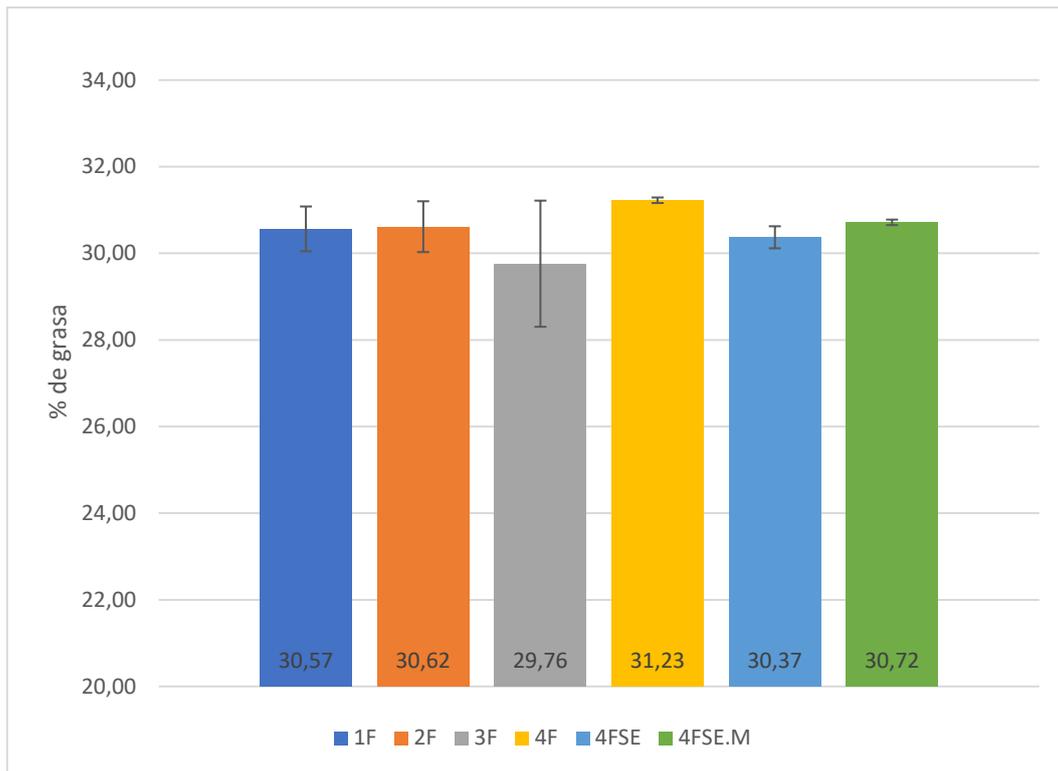


*Figura 16. Representación gráfica de los resultados del porcentaje de humedad de las diferentes preparaciones de chocolate industrial.*

El contenido de humedad antes del procesamiento de emulgentes en la cuarta fabricación (4FSE) fue más bajo que después del procesamiento industrial de estos (4F), pero en línea con el mezclado manual (4FSE.M). Esto puede deberse a pequeñas variaciones analíticas o a una posible captación de humedad que entra del aire circundante durante la manipulación de la muestra en el laboratorio.

#### **4.1.2. Porcentaje de grasa total**

Las muestras se analizaron por duplicado, obteniéndose los resultados que se muestran en la Figura 17.



*Figura 17. Representación gráfica de los resultados del porcentaje de grasa de las diferentes preparaciones de chocolate industrial.*

El porcentaje de grasa total fue muy similar en todas las muestras, variando entre 29,76% y 31,23%. No se observan diferencias significativas entre fabricaciones.

Estos resultados muestran una homogeneidad en el proceso industrial de fabricación que no provoca variaciones en el contenido de grasa total del chocolate. El conchado es la etapa de procesamiento más relevante en la cual se va extrayendo la grasa de la manteca mediante fuerzas de cizallamiento de manera doble. Por un lado, se produce una mezcla de cizallamiento donde el chocolate pasa entre dos superficies que se mueven una respecto a otra, un rotor móvil y las paredes estáticas. Por otro, se produce una mezcla elongacional cuando el chocolate entra en la región de alto cizallamiento entre el rotor y la pared de la concha (Jolly et al., 2003).

### 4.1.3. Tamaño de partícula

Los parámetros PSD obtenidos en los análisis se representan en la Tabla 4. Todas las muestras se analizaron por triplicado y los resultados mostrados a continuación hacen referencia al promedio de las tres repeticiones.

*Tabla 4. Datos de los parámetros PSD obtenidos mediante Mastersizer de las diferentes preparaciones industriales.*

	<b>1F</b>	<b>2F</b>	<b>3F</b>	<b>4F</b>	<b>4FSE</b>	<b>4FSE.M</b>
<b>D [3;2] <math>\mu\text{m}</math></b>	6,11	5,41	6,26	5,99	6,01	6,13
<b>D [4;3] <math>\mu\text{m}</math></b>	12,4	10,5	13,3	12,3	12,2	12,9
<b>D<sub>v</sub> (10) <math>\mu\text{m}</math></b>	2,72	2,42	2,76	2,67	2,68	2,69
<b>D<sub>v</sub> (50) <math>\mu\text{m}</math></b>	8,74	7,78	9,04	8,53	8,56	8,92
<b>D<sub>v</sub> (90) <math>\mu\text{m}</math></b>	28	22,9	30,3	27,4	27,4	29,5
<b>% Por debajo 75 <math>\mu\text{m}</math></b>	100	100	99,98	99,98	100	100
<b>% Por debajo 25 <math>\mu\text{m}</math></b>	87,14	92,11	85,14	87,71	87,66	85,76
<b>% Por debajo 20 <math>\mu\text{m}</math></b>	80,8	86,22	78,68	81,49	81,3	79,16
<b>% Por debajo 30 <math>\mu\text{m}</math></b>	91,52	95,68	89,75	91,91	92,01	90,42

En la Tabla 4 se representan diferentes parámetros PSD. D [3;2] es el diámetro medio del área de superficie. D [4;3] es el diámetro medio de las partículas ponderado en un volumen. D<sub>v</sub> (10) significa que el 10% de la muestra tiene un tamaño igual o menor a ese micraje. D<sub>v</sub> (50) es la mediana, es decir, la mitad de las partículas están por encima de ese tamaño y la otra mitad por debajo. D<sub>v</sub> (90) significa que el 90% de la muestra tiene un tamaño igual o menor a ese micraje. El resto de los parámetros son porcentajes de volumen por debajo de un tamaño de micraje.

Los datos de tamaño netos en función del volumen que representan cada uno, fueron representados en la Figura 18 para las cuatro fabricaciones.

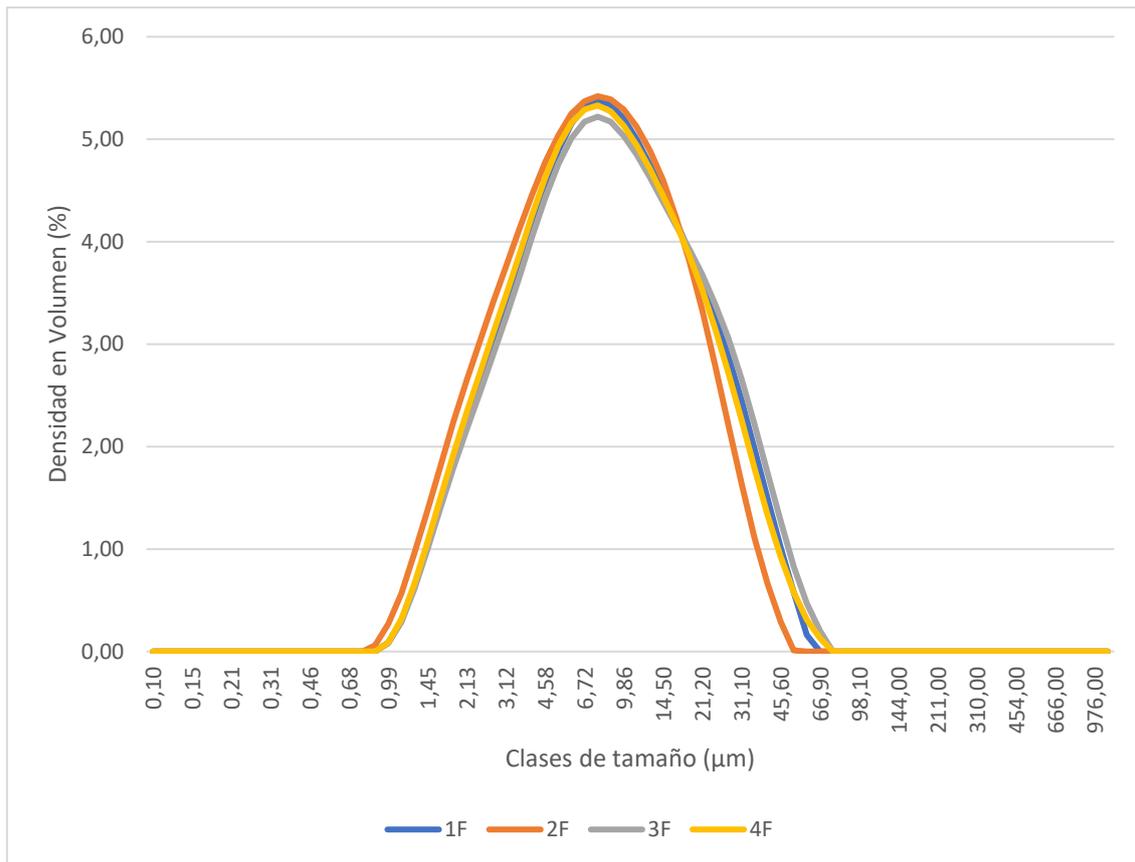
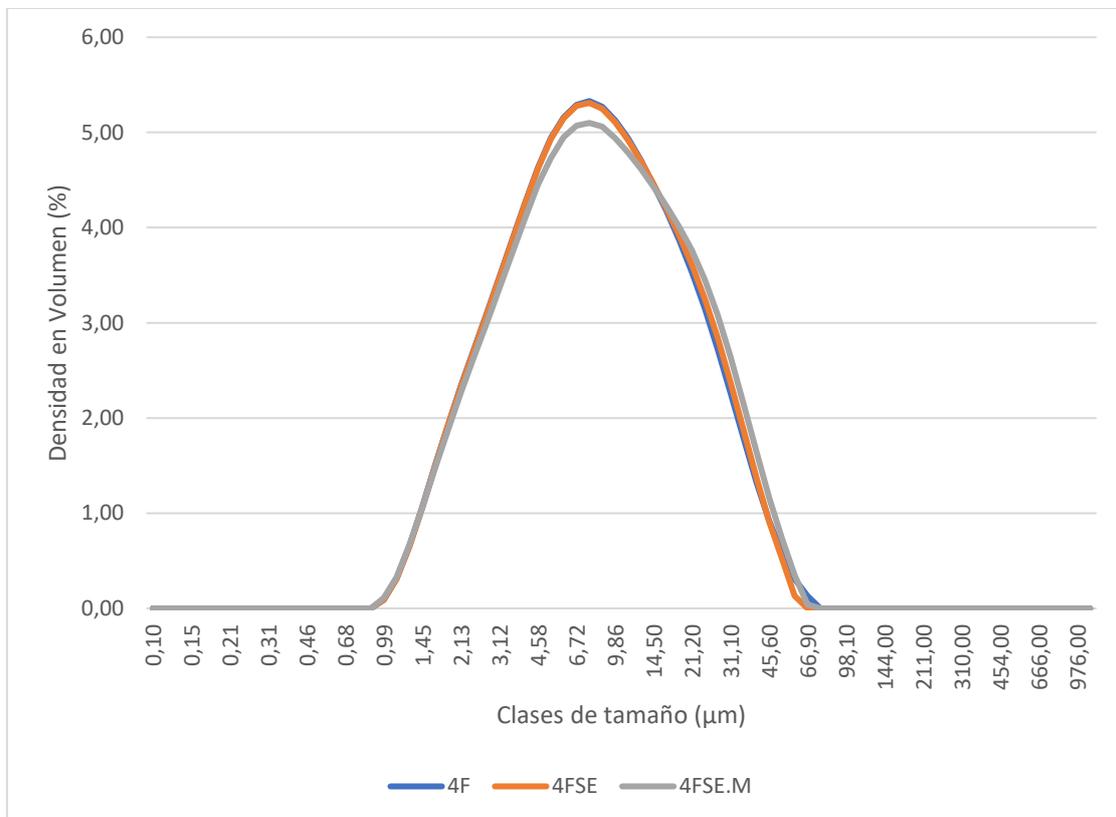


Figura 18. Distribución del tamaño de partícula de las cuatro fabricaciones industriales.

En la Figura 18 se puede observar que la distribución de tamaño de partícula es unimodal dándose los datos con la frecuencia más alta en torno a 8-9 micras en todas las fabricaciones coincidiendo, aproximadamente, con los  $D_v(50)$  de estas. No se observan cambios significativos. La 2F tiene una distribución de partículas mejor desde el punto de vista de calidad, ya que las partículas más pequeñas proporcionan una textura suave al gusto. Esta mejor distribución se corrobora con parámetros como  $D_v(90)$  donde el 90% de las partículas tienen un tamaño igual o menor de 22,9  $\mu\text{m}$  o el % por debajo de 75  $\mu\text{m}$  es un 100%. Por contra, 3F y 4F tienen un % por debajo de 75  $\mu\text{m}$  de 99,98%, por lo que ese pequeño porcentaje superior de partículas más grandes pueden dejar sensación de arenosidad en la boca (Afoakwa et al., 2008). La distribución del tamaño de partícula influye tanto en la calidad como en las propiedades reológicas.

En la Figura 19 se representa una comparación de PSD de 4F, con procesamiento industrial en todo el proceso de fabricación, 4FSE, faltándole la última etapa de conchado húmedo, y 4FSE.M, sustituyendo el conchado industrial por un mezclado manual en el laboratorio.



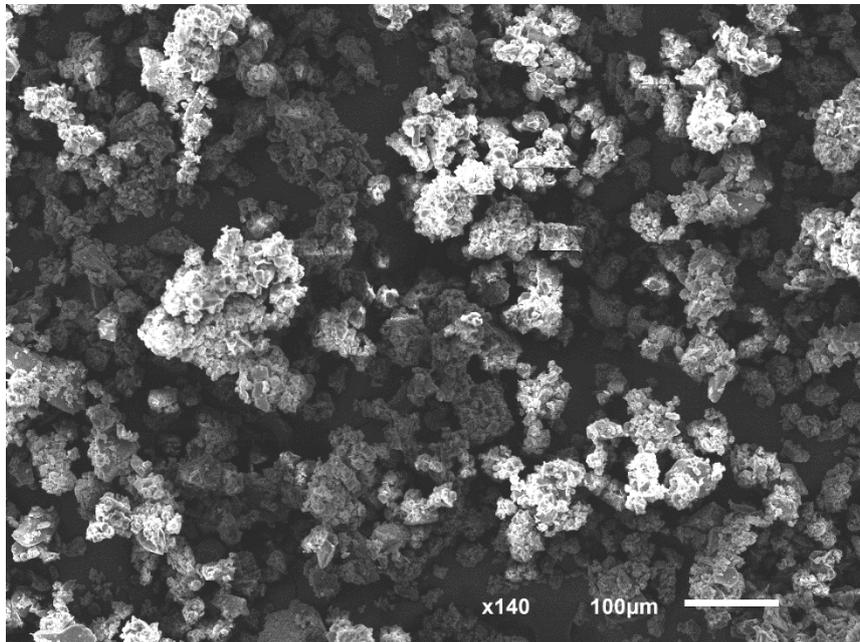
*Figura 19. Distribución del tamaño de partícula en las muestras de la cuarta fabricación.*

Como ya se ha comentado, Glicerina et al., 2013 & 2014 concluyeron que el conchado reduce el tamaño de partícula. Si bien en los resultados de la Figura 19, se observa una distribución unimodal, uniforme y prácticamente idéntica en las tres muestras. La distribución de 4FSE.M está ligeramente más aplanada, pero no influye significativamente en los parámetros PSD. Podría decirse que la última fase de conchado, con emulgentes, no influye en la distribución de tamaño de partícula.

#### 4.1.4. Microestructura

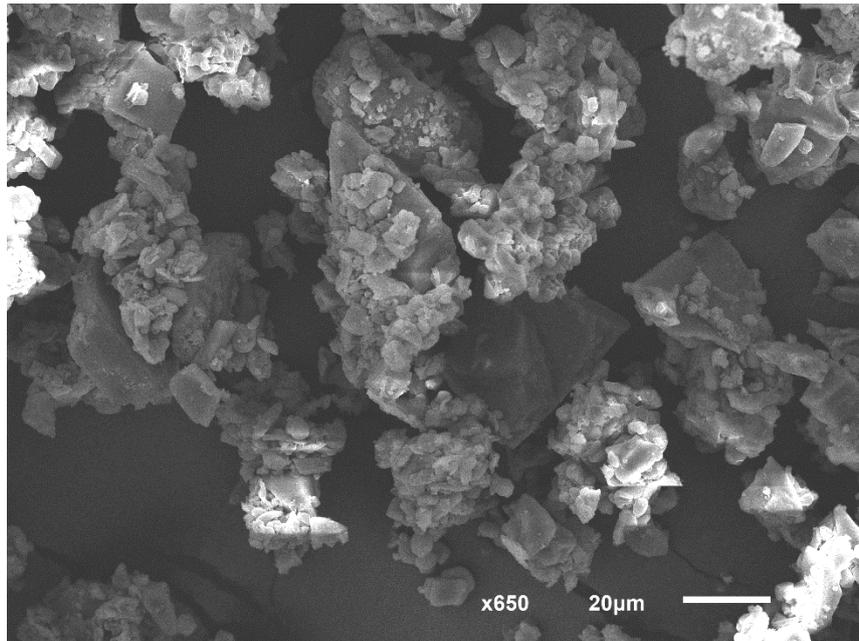
La Unidad de Nanotecnología y Membranas Nanoporosas dispone de microscopía de barrido de punta para análisis de muestras mediante microscopía de fuerza atómica (AFM) pero actualmente no dispone de técnico, por lo que su empleo en este proyecto no pudo realizarse. En consecuencia, se empleó otra técnica comentada anteriormente y empleada en el análisis microestructural de chocolate: microscopía electrónica de barrido (SEM)

En el SEM se analizó la muestra F4 obteniéndose la imagen representada en la Figura 20.



*Figura 20. Imagen microestructural de F4 captada por el SEM a x140.*

En la imagen se observan principalmente partículas de azúcar. Esto se debe a que, en la preparación de la muestra, esta se desgrasó con isopropanol de tal forma que la fase continua de manteca de cacao se arrastró en la filtración de la muestra. Se trató de identificar, mediante cuantificación de elementos químicos, los emulgentes presentes en la muestra, lecitina y PGPR ya que estos se componen en su mayoría de fosfolípidos (Sözeri et. al, 2020). En la Figura 21 se observa una estructura rectangular que mediante cuantificación de elementos mostraba cantidades relevantes de fosfatos (P). Si bien, no se encontraron más estructuras similares, por lo que la hipótesis está sin confirmar.



*Figura 21. Imagen microestructural de F4 captada por SEM a x650.*

## **4.2. Propiedades reológicas**

Se analizaron las propiedades reológicas del chocolate. Las propiedades analizadas fueron viscosidad, límite de fluencia y tixotropía. Los ensayos se hicieron por triplicado para cada muestra.

### **4.2.1. Efecto de los emulsionantes sobre la viscosidad ( $\eta$ )**

La Figura 22 muestra la tendencia de viscosidad ( $\eta$ ) para las cuatro fabricaciones industriales a medida que se les añade mayor porcentaje de PGPR sobre la fórmula base (0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR). Para obtener estos resultados, se realizó una curva de flujo con las diferentes muestras tal y como se especificará en la sección 4.2.3., aplicándose a continuación el modelo de Casson, por ser el modelo por excelencia propuesto para el chocolate por la ICA.

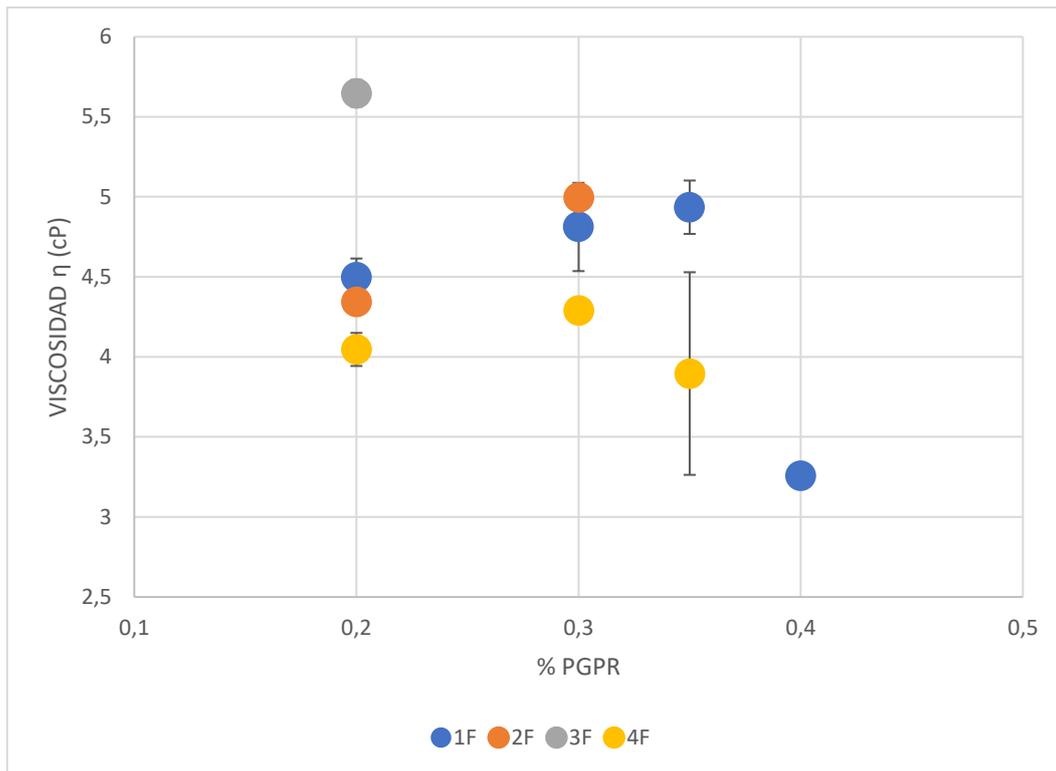


Figura 22. Tendencia de viscosidad de Casson de las cuatro fabricaciones industriales con diferentes concentraciones de PGPR.

Tanto en la gráfica como en los datos netos se puede observar que no se disponen de valores de viscosidad de Casson para una gran parte de las muestras y, por tanto, no se pueden representar. Esto se debe a que Casson no ajusta a límites de fluencia bajos. Un estudio realizado por Aeschlimann & Beckett (2000) concluyó que el modelo de Casson era limitado en precisión ya que, a tasas de cizalladura bajas los datos de reología del chocolate no ajustan bien al modelo.

En consecuencia, se empleó el modelo de Bingham para el análisis de los datos. El modelo se aplicó al punto 3 del reograma, descrito en la Tabla 3, cuando el reómetro trabaja en modo CR a una velocidad de cizalla de  $2,000 - 50,00 \text{ s}^{-1}$  durante 180 s a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . En la Figura 23 se representan los datos de viscosidad de Bingham para las cuatro fabricaciones. Para obtener estos resultados, se realizó una curva de flujo con las diferentes muestras tal y como se especificará en la sección 4.2.3.

Todas las fabricaciones siguen la misma tendencia polinómica de orden 2 en la cual los datos se ajustan a la línea de tendencia con  $R^2$  superiores a 0,9, salvo en la 4F que es

0,7119. Esto último puede deberse a que el punto 0,35 del eje X, se observa una mayor dispersión de los datos.

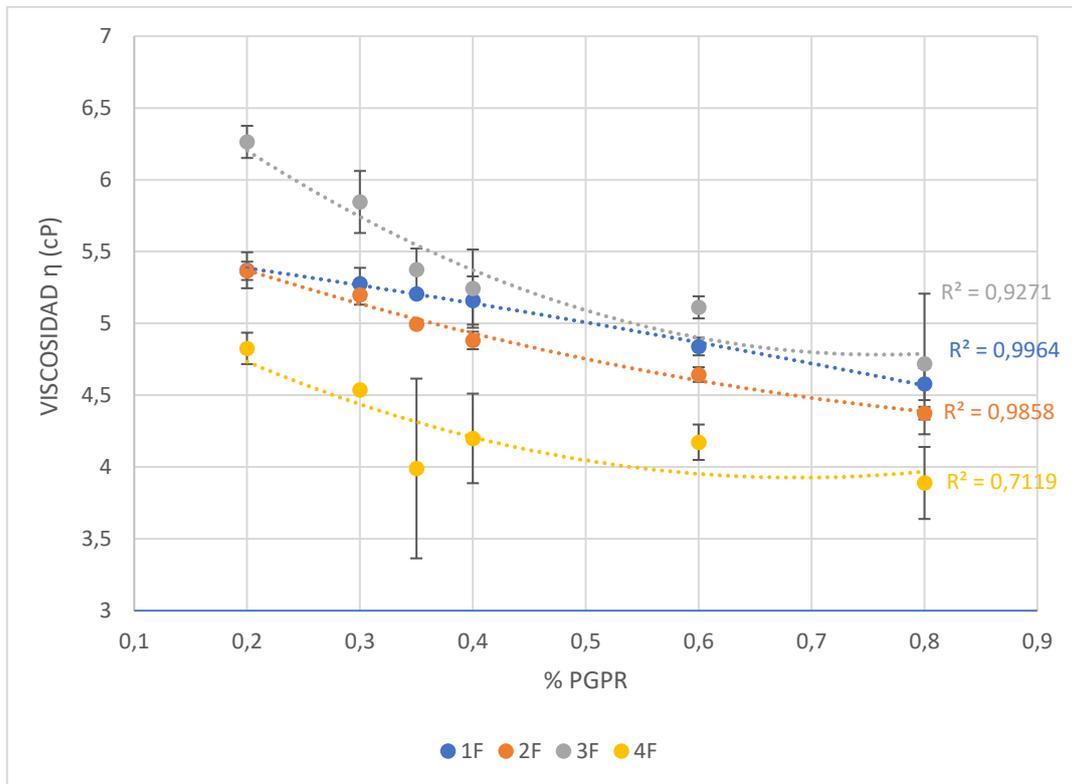


Figura 23. Efecto del PGPR sobre la viscosidad ( $\eta$ ) para las cuatro fabricaciones industriales de chocolate.

De acuerdo con estos resultados, a medida que se añade más PGPR sobre las fabricaciones industriales de chocolate se produce una disminución de la viscosidad que sigue la misma tendencia en todas. Rousset et al., 2002 concluyó que la adición de PGPR sobre chocolate fundido disminuía ligeramente la viscosidad en comparación con la lecitina.

Con el objetivo de evidenciar el efecto del conchado sobre la viscosidad de la muestra, en la Figura 24 muestra la comparación en términos de viscosidad de la 4F de una muestra conchada, con 0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR, a la que se le va añadiendo cada vez más % de PGPR y una muestra sin emulgentes conchados (4FSE) a la cual se le añade 0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR mediante mezclado manual y a partir de ahí diferentes % de emulgentes sobre esa mezcla inicial.

Ambas líneas de datos siguen una tendencia polinómica de orden 2 en la cual los datos de 4F se ajustan a la línea de tendencia con una  $R^2$  de 0,703 y los datos de 4FSE con una

$R^2$  de 0,9464. En el punto 0,35 del eje X hay una mayor dispersión de datos, comentada también en la Figura 23, que explica el valor de  $R^2$  en la línea de tendencia para la 4F.

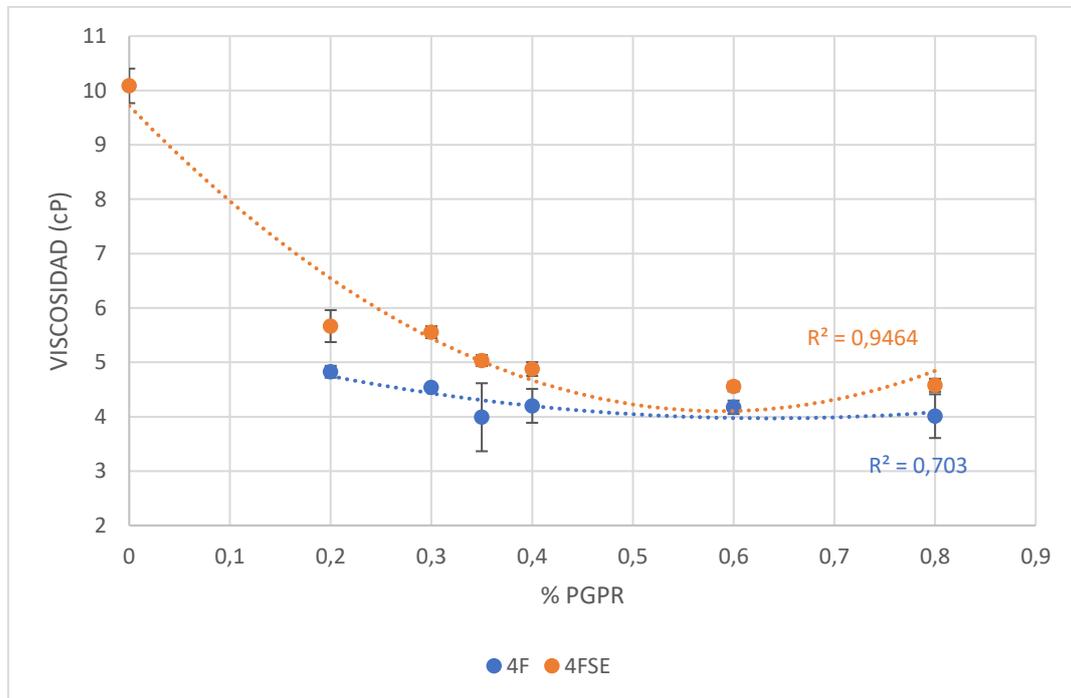


Figura 24. Efecto comparado, en 4F y 4FSE, del PGPR sobre la viscosidad. Todas las muestras analizadas tienen además una concentración constante de 0,3% de lecitina, excepto la muestra 4FSE con un 0% de PGPR, que tampoco tiene lecitina.

En el gráfico se puede observar una similitud de los datos reológicos de viscosidad, obtenidos mediante mezclado manual partiendo de dos muestras distintas y simulando un proceso de conchado industrial. Se observan diferencias entre las tendencias de datos de ambas fabricaciones ya que para cada punto de PGPR ensayado la viscosidad aparente es más baja que cuando el conchado se produce en fábrica que si se produce manual. Esas diferencias son bajas por lo que no son significativas, lo que indica que el mezclado manual es un buen simulador del proceso de conchado en términos de homogenización y reproductibilidad.

El conchado es una etapa clave para la caracterización de las propiedades reológicas del chocolate. Como se mencionó anteriormente, en este proceso de mezcla intervienen fuerzas de cizallamiento las cuales son las responsables de recubrir las partículas de sólidos con manteca de cacao y que el chocolate adquiera las características reológicas óptimas. Glicerina et al, 2017 concluyó que el conchado afecta a la viscosidad,

reduciéndola. Esto se observa tanto en la Figura 23 como en la 24 mediante mezclados manuales.

Además, en esta Figura 24 cabe resaltar que la muestra 4FSE tiene de base un porcentaje de lecitina del 0,3% (excepto el primer punto, que no tiene ni PGPR, ni lecitina). Según la ficha técnica de la lecitina disponible en el Anexo 1 entre sus principales aplicaciones esta la alta capacidad emulsionante que reduce la viscosidad del chocolate. También menciona que en el chocolate se puede agregar hasta un máximo de 0,3-0,5%. En el chocolate que se emplea para este proyecto se añade un máximo de 0,3%, con lo cual está dentro del rango que especifica este proveedor.

#### **4.2.2. Efectos de los emulsionantes sobre el límite de fluencia**

La Figura 25 muestra la tendencia del límite de fluencia ( $\tau$ ) para las cuatro fabricaciones industriales a medida que se les añade mayor porcentaje de PGPR sobre la fórmula base (0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR). Para obtener estos resultados, se realizó la curva de flujo con las diferentes muestras tal y como se especificará en la sección 4.2.3. aplicándose, como ya se comentó anteriormente el modelo de Casson, por ser el modelo por excelencia propuesto para el chocolate por la ICA.

Tanto en la gráfica como en los datos netos se puede observar que no se dispone de datos en gran parte de las muestras y, por tanto, no se pueden representar debido a que Casson no ajusta a límites de fluencia bajos. En consecuencia, se empleó el modelo de Bingham para el análisis de los datos. El modelo se aplicó al punto 3, descrito en la Tabla 3, cuando el reómetro trabaja en modo CR a una velocidad de cizalla de 2,000 – 50,00 s<sup>-1</sup> durante 180 s a 40 °C. En la Figura 26 se representan los datos netos de Bingham para las cuatro fabricaciones. Para obtener estos resultados, se realizó una curva de flujo con las diferentes muestras tal y como se especificará en la sección 4.2.3.

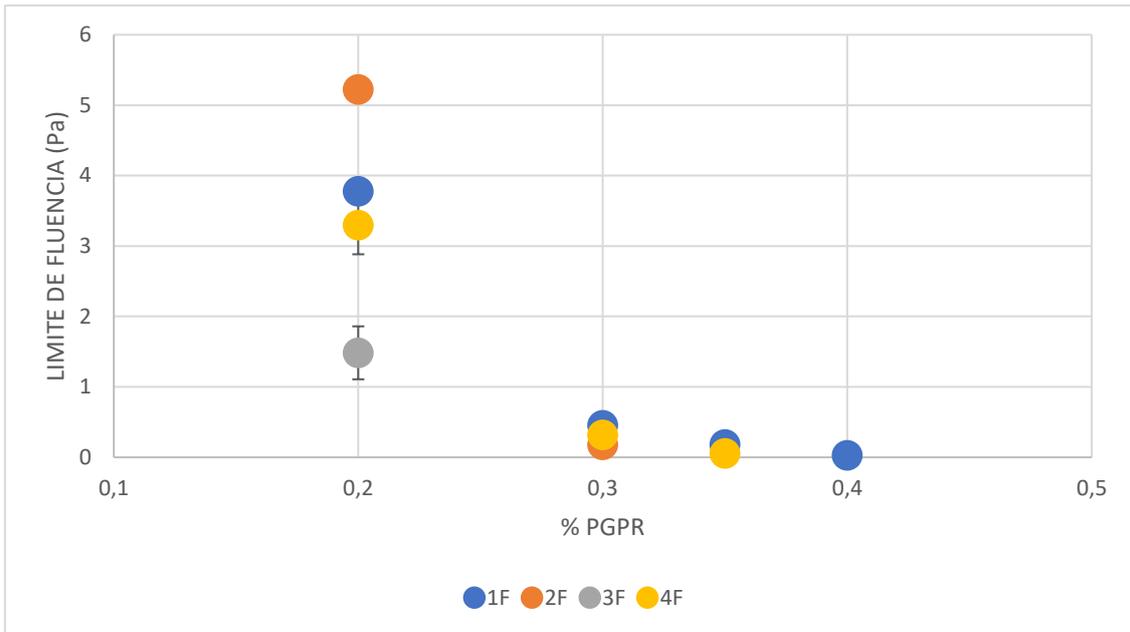


Figura 25. Efecto del PGPR sobre el límite de fluencia empleando al modelo de Casson para las muestras de las cuatro fabricaciones industriales con diferentes concentraciones de PGPR.

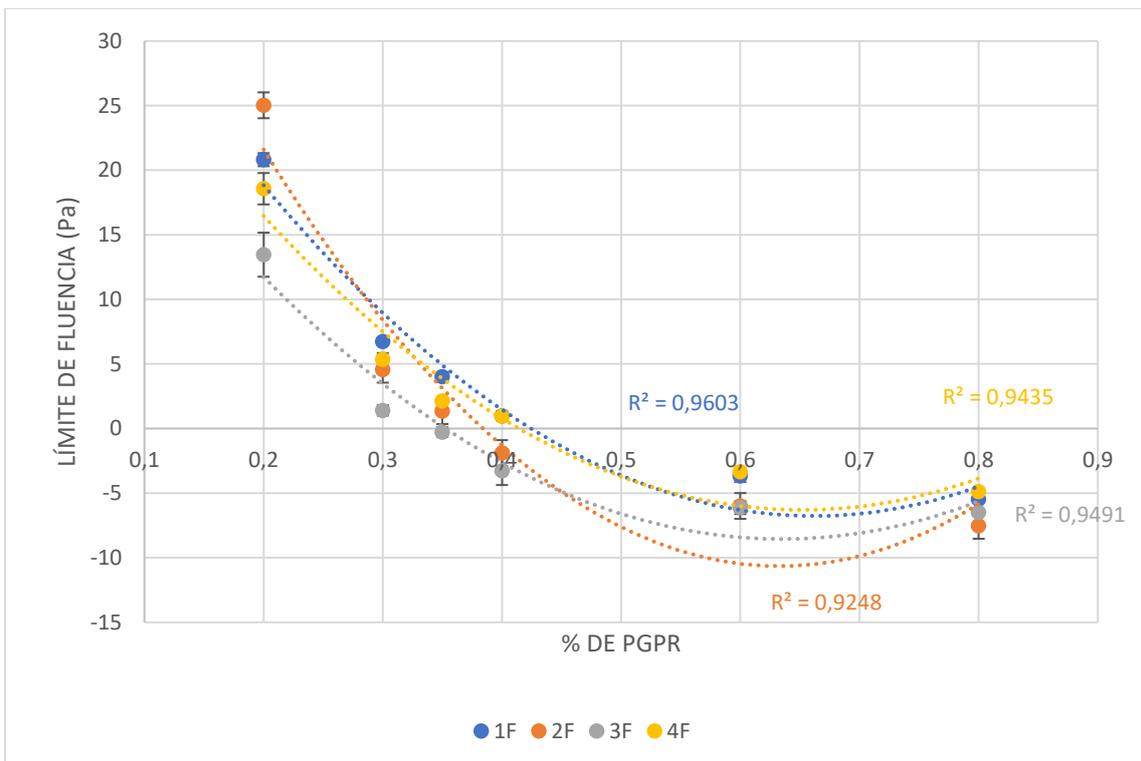


Figura 26. Efecto del PGPR sobre el límite de fluencia empleando el modelo de Bingham para las cuatro fabricaciones industriales de chocolate.

Todas las fabricaciones siguen la misma tendencia polinómica de orden 2 en la cual los datos se ajustan a la línea de tendencia con  $R^2$  superiores a 0,9 en todos los casos. No se aprecian grandes variaciones entre las tres medidas para cada punto.

En la Figura 26 se observa que a partir de un determinado porcentaje de PGPR el límite de fluencia adquiere un valor negativo, imposible de obtener físicamente, a partir del cual las diferencias al añadir más % de PGPR se atenúan, tendiendo los resultados a 0. Según Beckett, 1999, el PGPR tiene la particularidad de reducir fuertemente y hasta anular el valor de fluencia del chocolate.

Según la ficha técnica del PGPR disponible en el Anexo 1, este es muy útil para reducir el límite de fluencia en el chocolate, pudiendo añadirse hasta un máximo de 0,3%. En este proyecto se añade hasta un 0,8% y con un 0,35% en 3F ya se observan resultados tendiendo a 0 lo que va en concordancia con las especificaciones del proveedor de este emulgente. Con un 0,4% añadido se observa que todas las muestras han superado su capacidad de asimilación del PGPR.

En la ficha también especifica que a menudo se usa en combinación con lecitina lo que permite obtener resultados óptimos consiguiendo que en el procesado no se formen burbujas de aire y que el chocolate quede uniforme confirmándolo estudios como el de Sözeri et. al, 2020.

Existen numerosos ensayos en los que se proponen diferentes proporciones de lecitina y PGPR conjuntos como mezcla óptima en el chocolate. Schantz & Rohm (2005) propusieron que una mezcla de 1:3 de lecitina y PGPR respectivamente reducían el límite de fluencia de manera eficaz, lo que va en concordancia con este proyecto en el cual en proporciones 0,3% de lecitina y un 0,2% de PGPR se obtienen resultados óptimos en términos reológicos de viscosidad y límite de fluencia tanto para el modelo de Bingham como para el de Casson. Otros estudios como como Schuster (1985), Hofs & Taschke (2002) y Hasenhuettl & Hartel (2008) proponían diferentes proporciones de lecitina:PGPR, siendo 2:1, 3:1 y 2,5:1 respectivamente.

La Figura 27 muestra la comparación en términos de límite de fluencia de la 4F de una muestra conchada, con 0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR, a la que se le va añadiendo cada vez más % de PGPR y una muestra sin emulgentes conchados (4FSE) a la cual se le añade 0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR mediante mezclado manual y a partir de ahí diferentes % de PGPR sobre esa mezcla inicial.

Ambas líneas de datos siguen una tendencia polinómica de orden 2 en la cual los datos de 4F se ajustan a la línea de tendencia con una  $R^2$  de 0,9435 y los datos de 4FSE con una  $R^2$  de 0,891. En el gráfico se puede observar una similitud de los datos reológicos de viscosidad, obtenidos mediante mezclado manual partiendo de dos muestras distintas y simulando un proceso de conchado industrial. Se observan diferencias, pero no son significativas entre las tendencias de datos de ambas fabricaciones, lo que indica lo mencionado hasta ahora, que el mezclado manual podría ser un buen simulador del proceso de conchado en términos de homogenización y reproductibilidad.

En el gráfico se observa una disminución drástica del límite de fluencia en 4FSE entre 0 y 0,2% de PGPR teniendo en cuenta que también se le mete lecitina, se produce una variación del límite de fluencia muy considerable y, en cambio cantidades superiores de PGPR no afectan tanto

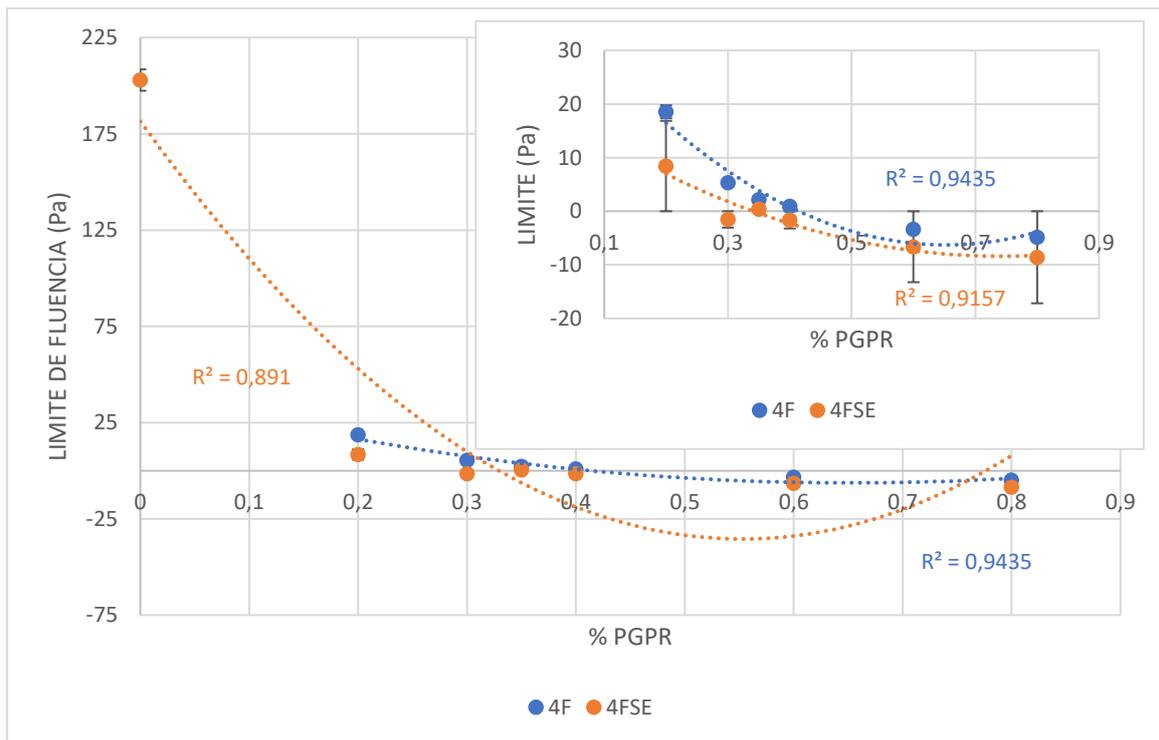


Figura 27. Efecto comparado, en 4F y 4FSE, del PGPR sobre el límite de fluencia.

### 4.2.3. Evaluación de las curvas de flujo

Las curvas de flujo se emplean para conocer si los datos que proporciona el reómetro se ajustan al modelo reológico que estoy empleando y, por tanto, si los datos son fiables. En una curva de flujo se emplean diferentes velocidades de cizallamiento y se representa la fuerza requerida a cada velocidad para hacer fluir el chocolate

Se representaron gráficamente las curvas de flujo a raíz de los datos de curva teórica y experimental. El ajuste matemático se realizó empleando el modelo de Bingham utilizado para el análisis de los datos reológicos descritos hasta ahora. En la Figura 28 se representa la curva de flujo para la cuarta fabricación (4F), donde 'E' hace referencia a la curva de flujo experimental y 'T' a la curva de flujo teórica.

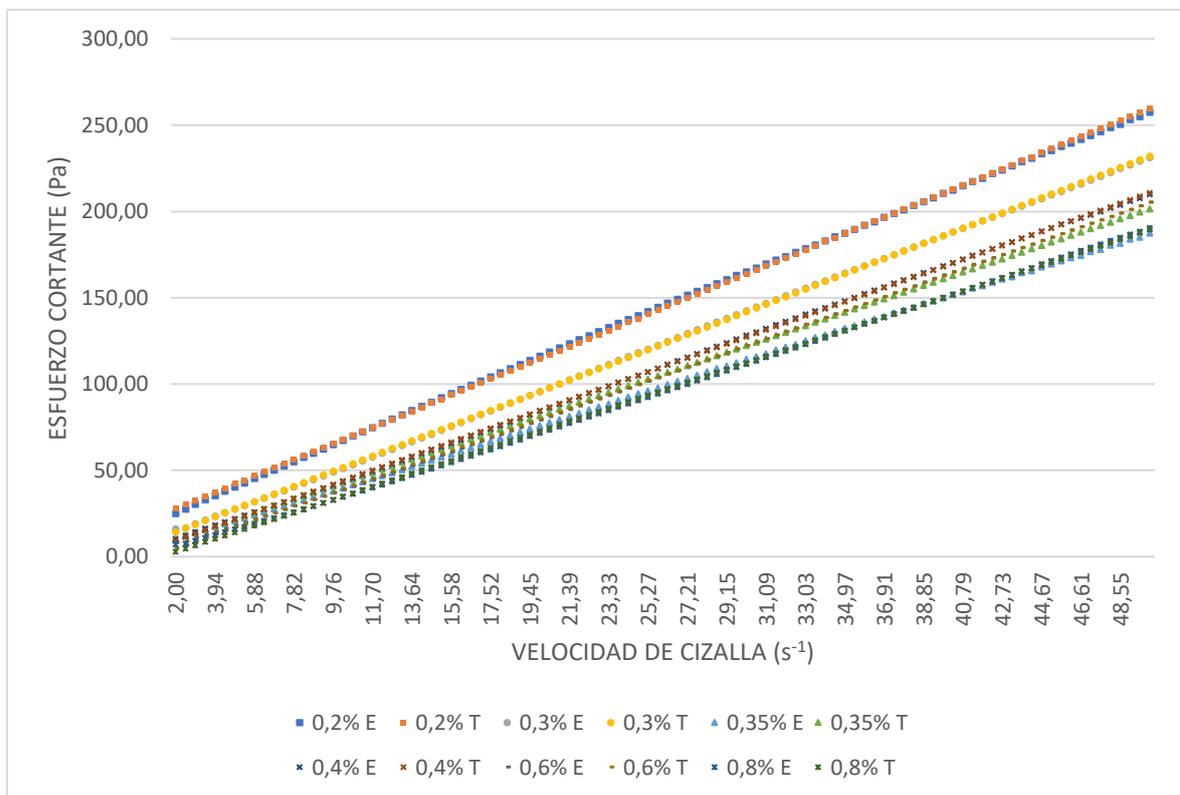


Figura 28. Curva de flujo de 4F para todas las adiciones de PGPR.

Como se puede ver en la figura, la gráfica evidencia que las diferencias en los esfuerzos cortantes dados a velocidades de cizallamiento particulares dependen en gran medida del % de PGPR añadido. A mayor % de PGPR, el chocolate necesita menor esfuerzo cortante para fluir y, por tanto, tiene un umbral de fluencia cada vez mayor.

En las curvas de flujo representadas en la Figura 28 se observa que entre las curvas experimentales y teóricas para cada % añadido de PGPR no existen desviaciones, por lo que los resultados reológicos analizados hasta ahora son fiables porque se ajustan al modelo de Bingham.

#### 4.2.4. Efectos de los emulsionantes sobre la tixotropía

En la Figura 29 se representa gráficamente la tixotropía para cada una de las cuatro fabricaciones industriales. Los datos que se representan en la figura se obtuvieron a partir del área que encerraban las curvas de flujo vistas con anterioridad. Se caracterizó el área de histéresis que encerraban las curvas de ascenso ( $A_{max}$ ) y descenso ( $A_{min}$ ) como en el estudio de Afoakwa et al., (2008). Los datos se pueden consultar en el Anexo 6.

Todas las fabricaciones siguen la misma tendencia polinómica de orden 2 en la cual los datos se ajustan a la línea de tendencia con  $R^2$  superiores a 0,77. Los puntos dispersos en la gráfica en todas las tendencias de datos explicarían esta correlación de datos mínima del 77%:

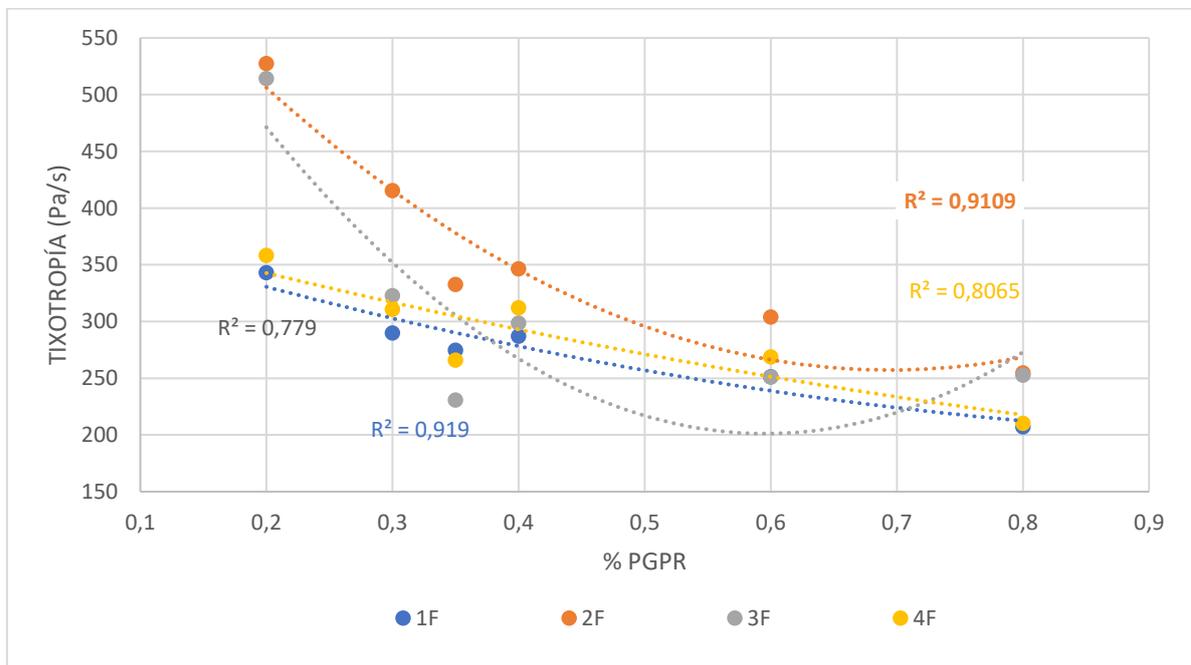


Figura 29. Tendencia tixotrópica en las cuatro fabricaciones industriales de chocolate.

Como ya se ha comentado, el chocolate presenta tixotropía (Pa/s). Esta, representa la variación de la estructura con el tiempo. A mayor tixotropía, más compleja es la mezcla y, por tanto, más difícil será homogeneizarla.

En la Figura 29 se evidencia que a medida que se añade mayores % de PGPR la tixotropía disminuye. El PGPR tiene un efecto significativo sobre la tixotropía afectando de manera directa a este parámetro, estabilizándolo y haciendo la mezcla de chocolate más homogénea y, por tanto, más fácil de procesar industrialmente.

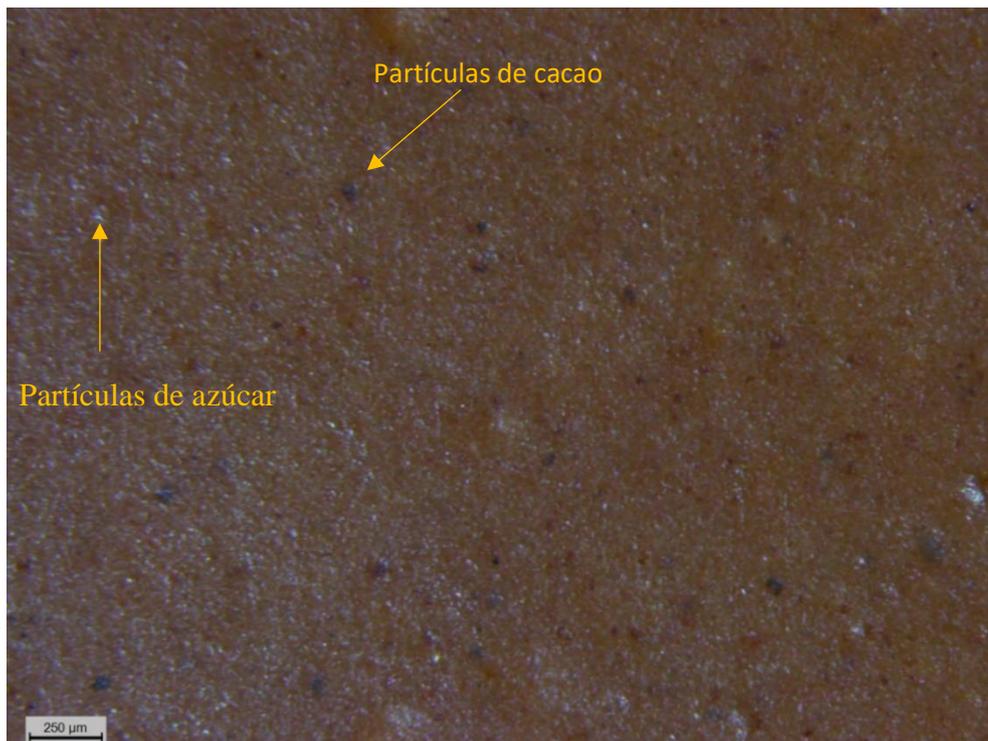
Chevalley (1999) sugirió que la tixotropía es esencial en chocolates gruesos y en este proyecto el PGPR es un factor clave que podría manipularse para reducir la tixotropía en un chocolate 48%.

### **4.3. Microscopía de fluorescencia**

Se estudió el efecto de los emulgentes sobre la superficie y/o relieve del chocolate mediante el uso de una lupa de fluorescencia.

Primero, se analizó la muestra F4SE, pudiendo denominarla ‘control’, ya que esta no contiene lecitina de soja ni PGPR, por lo que resulto la más adecuada para estudiar la superficie del chocolate al estar compuesta únicamente por azúcar, manteca y cacao.

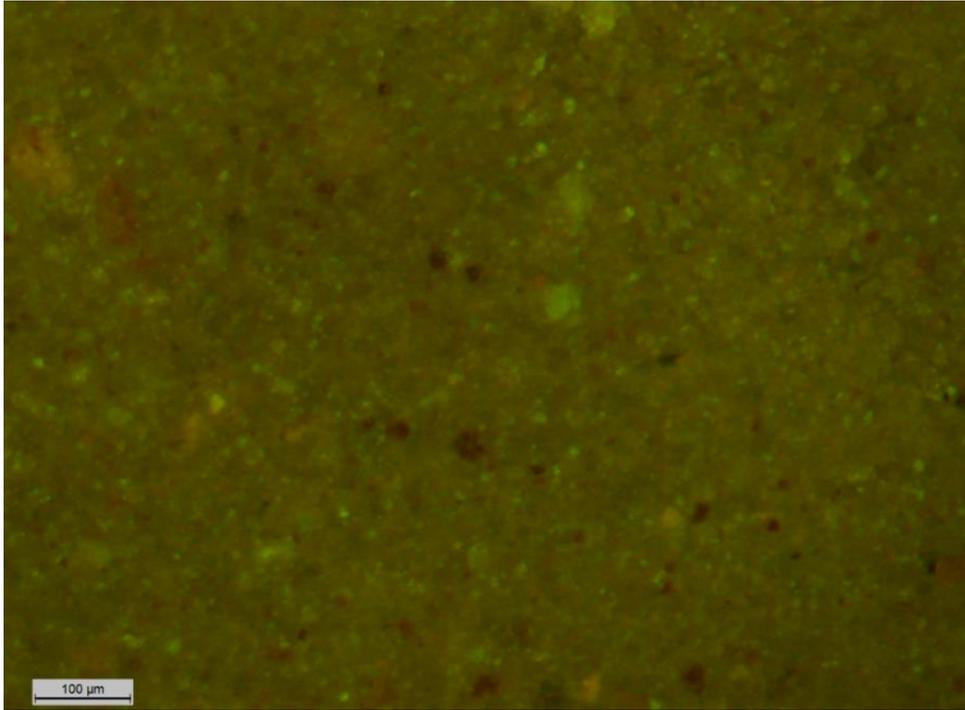
La Figura 30 muestra una imagen microestructural de F4SE captada con la lupa de fluorescencia.



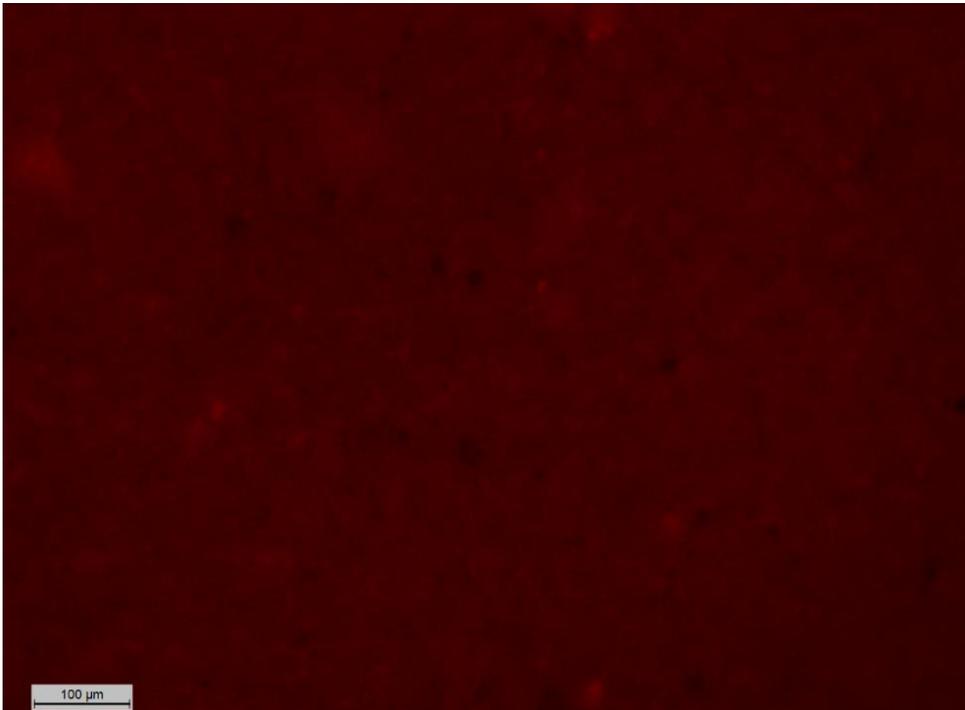
*Figura 30. Imagen microestructural de F4SE captada con microscopía de fluorescencia. Tomada con zoom 40x.*

En la imagen se distinguen claramente las partículas de azúcar, siendo más brillantes que el resto de la muestra, la manteca, la cual adquiere una tonalidad amarronada y las partículas de cacao, observando las más grandes con claridad mientras que el resto, al tener un tamaño más reducido, pueden estar embebidas con la manteca resultando su identificación individual más complicada con esta técnica.

Mediante el uso de luz verde y roja se trató de identificar de forma más concisa los componentes de la muestra. En las Figuras 31 y 32 se observa que, las partículas de azúcar reflejan las tonalidades verde-rojo identificándose de forma brillante. Por otro lado, las partículas de cacao no reflejan ninguna luz y se siguen mostrando en un tono oscuro.



*Figura 31. Imagen microestructural de F4SE captada con microscopía de fluorescencia y luz verde. Tomada con zoom 140x.*



*Figura 32. Imagen microestructural de F4SE captada con microscopía de fluorescencia y luz roja. Tomada con zoom 140x.*

Seguidamente a la muestra control, se analizó una muestra de la cuarta fabricación (4F) con 0,3% de lecitina y 0,8% de PGPR total con el objetivo de identificar cambios estructurales en la superficie en una muestra con exceso de PGPR. En la Figura 33 no se observan diferentes estructurales en el relieve de la muestra. Las zonas con aspecto blanquecino y/o amarillento, corresponden a lugares de la muestra donde el chocolate se encontraba desatemperado y, por tanto, lo que se identifica es manteca de cacao que migró a la superficie.



*Figura 33. Imagen microestructural de F4 con 0,3% de lecitina y 0,8% de PGPR total.  
Tomada con zoom 40x.*

## **5. CONCLUSIONES**

La adición de emulgentes en la fase final de conchado no tiene efectos significativos sobre la humedad, grasa y distribución del tamaño de partícula. Por tanto, en este estudio, no influyen sobre las propiedades reológicas de viscosidad y límite de fluencia.

La adición de PGPR tiene efectos sobre las propiedades reológicas de viscosidad y límite de fluencia. En concreto, sobre este último afecta de manera considerable reduciéndolo y llegando a reducir su valor a cero, mientras que sobre la viscosidad actúa reduciéndola, pero no de una manera tan extrema como con el PGPR.

La etapa de conchado es crucial en el procesamiento del chocolate, siendo posible reproducirla, en parte, mediante mezclado manual en el laboratorio, pero sin llegar a ser del todo representativa esta mezcla observándose diferencias en los resultados.

La adición de PGPR disminuye de manera drástica la tixotropía, favoreciendo una mezcla de chocolate más homogénea y, por tanto, más fácil de procesar industrialmente en una fábrica. Si bien hay que controlar el porcentaje de adición total de este emulgente ya que si se añade en exceso puede derivar en un chocolate muy líquido, que no interese industrialmente.

No se encontraron resultados claros sobre el efecto de los emulgentes sobre la microestructura de chocolate. Por otro lado, no se aprecian variaciones en la superficie y / o relieve del chocolate tras la adición de emulgentes.

## 6. SÍMBOLOS

**1F.** Primera fabricación industrial de chocolate.

**2F.** Segunda fabricación industrial de chocolate.

**3F.** Tercera fabricación industrial de chocolate.

**4F.** Cuarta fabricación industrial de chocolate.

**4FSE.** Cuarta fabricación industrial previa a la adición de emulgentes.

**4FSE.M.** 4FSE con un mezclado manual de los emulgentes, en concreto 0,3% de lecitina y 0,2% de PGPR.

**AFM.** Microscopía de fuerza atómica.

**ICA.** Asociación internacional de confitería.

**PGPR.** Poliricinoleato de poliglicerol.

**PSD.** Distribución del tamaño de partícula (*Particle Size Distribution*).

**SEM.** Microscopio electrónico de barrido (*Scanning Electron Microscope*).

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Aeschlimann, J.M & Beckett, S.T (2000). *International inter-laboratory trials to determine the factors affecting the measurement of chocolate viscosity*. Journal of Texture Studies, 31 (5), pp. 541-576.
- Afoakwa, E.O., Paterson, A., & Fowler, M. (2007) *Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate — a review*. Trends Food Sci Technol, 18 pp. 290-298.
- Afoakwa, E.O., Paterson, A. & Fowler, M (2008). *Effects of particle size distribution and composition on rheological properties of dark chocolate*. Eur Food Res Technol 226, 1259–1268.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Vieira, J. (2008). *Relationship between rheological, textural and melting properties of dark chocolate as influenced by particle size distribution and composition*. European Food Research and Technology, 227(4), 1215-1223.
- Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, & M., Vieira, J. (2009). *Comparison of rheological models for determining dark chocolate viscosity*. International Journal of Food Science and Technology, 44 (1), pp. 162-167.
- Afoakwa, E.O. (2010). *Chocolate science and technology*. Wiley Blackwell, Oxford, UK.
- Arnold, G., Schuldt, S., Schneider, Y., Friedrichs, J., Babick, F., Werner, C., et al. (2013b). *The impact of lecithin on rheology sedimentation and particle interactions in oil-based dispersions*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 418, 147–156.
- Ashok R. Patel, Ysamar Rodriguez, Ans Lesaffer & Koen Dewettinck (2014) *High internal phase emulsion gels (HIPE-gels) prepared using food-grade components*. RSC Adv., 4, 18136.
- Beckett, S.T. (1994). *Fabricación y utilización industrial del chocolate*. 1ª edición.
- Beckett, S. T. (2009). *Industrial chocolate manufacture and use*. 4nd ed. London: Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall.
- Beg, M.S., Ahmad, S., Jan, K., & Bashir, K. (2017). *Status, supply chain and processing of cocoa - a review*. Trends Food Sci. Technol., 66, pp. 108-116.
- Bingham, E.C. (1922). *Fluidity and Plasticity*. McGraw-Hill, New York.

- Casson, N. (1959). *A flow equation for pigment-oil suspensions of the printing ink type*. C.C. Mill (Ed.), Rheology of Disperse Systems, Pergam. Press, Oxford.
- Cavella, S., Miele, N. A, Fidaleo, M., Borriello, A., & Masi, P. (2020). *Evolution of particle size distribution, flow behaviour and stability during mill ball refining of a white chocolate flavouring paste*. Lebensmittel-Wissenschaft + [i.e. und] Technologie, 132.
- Chevalley, J. (1999). *Chocolate flow properties*. In S. T. Beckett (Ed.), Industrial chocolate manufacture and use (pp. 182–200). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- CODEX STAN 87-1981 (2003). *Norma para el chocolate y los productos del chocolate*. Enmienda 2016.
- Coutinho, N.M., Silveira M.R., Pimentel T.C., Freitas M.Q., Moraes, J., Fernandes, L.M., Silva, M.C., Raices R.S.L., Ranadheera, C.S., Borges, F.O., Neto, R.P.C., Tavares, M.I.B., Fernandes, F.A.N., Nazzaro, F., Rodrigues S., & Cruz. A.G. (2019). *Chocolate milk drink processed by cold plasma technology: Physical characteristics, thermal behavior and microstructure*. LWT-Food Science and Technology, 102, pp. 324-329.
- Devos N, Reyman D., & Sanchez-Cortés S (2021). *Chocolate composition and its crystallization process: A multidisciplinary analysis*. Food Chem. 16;342:128301.
- Doraiswamy, D., (2002). *The Origins of Rheology: A Short Historical Excursion*, Rheology. Bulletin.
- End, M.J. & Dand, R., (2015). *Cocoa Beans: Chocolate and Cocoa Industry Quality Requirements*. CAOBISCO/ECA/FCC.
- FAO, (2021). <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/es/#c453333>. Consultada el 04/07/2021.
- Febrianto., N.A., Wang., S & Zhu., F. (2021) [\*Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: a review\*](#). Critical Reviews in Food Science and Nutrition 0:0, pages 1-32.
- Feichtinger, A., Scholten, E. & Sala, G. (2020). *Effect of particle size distribution on rheological properties of chocolate*. Food Funct., 11, pp. 9547-9559.
- Fibrianto, K., Azhar, L. O. M. F., Widyotomo, S., & Harijono, H. (2021). *Effect of cocoa bean origin and conching time on the physicochemical and microstructural properties of Indonesian dark chocolate*. Brazilian Journal of Food Technology, 24, e2019249.

- Fischer, P. & Windhab, E. J. (2011). *Rheology of food materials*. Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 16(1):36–40.
- Flores-Andrade, E., Zaira, A.B., Maribel, J., Cesar, I.B., & Pascual-Pineda, L.A. (2020). *Carotenoid nanoemulsions stabilized by natural emulsifiers: Whey protein, gum Arabic, and soy lecithin*. Journal of Food Engineering, 290.
- Friberg, S., Larsson, K. & Sjoblom, J. (2004). *Food Emulsions*. New York: Marcel Dekker.
- Glicerina, V., Balestra, F., Dalla Rosa, M., & Romani, S. (2013). *Rheological, Textural and calorimetric modifications of dark chocolate during process*. J. Food Eng., 119, pp. 173-179.
- Glicerina, V., Balestra, F., Dalla Rosa, M., Bjorn Bergensthal, Eva Tornberg & Romani, S. (2014). *The influence of different processing stages on particle size, microstructure, and appearance of dark chocolate*. J. Food Sci., 79, pp. 1359-1365.
- Glicerina, V., & Romani, S., (2017) *Advances in Yield Stress Measurements for Chocolate.*, in *Advances in Food Rheology and Its Applications*,
- Gonçalves E.V., & Lannes S.C.D.S. (2010) *Reología del chocolate*. *Ciência e Tecnol. Aliment.*, 30 (4), pp. 845-851.
- Gotz, J.; Balzer, H.& Hinrichs, R. (2005). *Characterisation of the structure and flow behaviour of model chocolate systems by means of NMR and Rheology*. *Applied Rheology*, v. 15, p. 98-111.
- Hasenhuettl G.L.& Hartel. R.W. (2008). *Food emulsifiers and their applications*, Vol. 19, Springer.
- Hofs, M. & Taschke, H. (2002). *Emulgatoren: Hilfsmittel mitvielfaltigen wirkmechanismen*. *Zucker-und S. uX warenwirtschaft*, 55 pp. 6-8.
- Jolly M.S., Blackburn S., & Beckett S.T (2003). *Energy reduction during chocolate conching using a reciprocating multihole extruder*. J. Food Eng., 59, pp. 137-142.
- Kleinert. J. (1997). *Handbuch der Kakaoverarbeitung und Schokoladeherstellung*. (1ª ed.), Behr's Verlag, Hamburgo, Alemania.
- Konar, N. (2013). *Influence of conching temperature and some bulk sweeteners on physical and rheological properties of prebiotic milk chocolate containing inulin*. *European Food Research and Technology*, 236(1), 135-143.

- Konstantas, A., H. Jeswani, Laurence Stamford & A. Azapagic. (2018). *Environmental impacts of chocolate production and consumption in the UK*. Food research international 106: 1012-1025.
- Malvern analytical (2021). <https://www.malvernpanalytical.com/es/support/product-support/mastersizer-range/mastersizer-2000>. Recuperado el 04/07/2021.
- Malvern analytical (2021). <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/product-range/mastersizer-range/mastersizer-3000e/accessories/hydro-sm/>. Recuperado el 04/07/2021.
- Middendorf, D., Juadjur, A., Bindrich, U., & Mischnick., P. (2015). *AFM approach to study the function of PGPR's emulsifying properties in cocoa butter based suspensions*. Food Struct., 4, pp. 16-26.
- Morés, M.P., & Treviño J.S. (2010). *Implementación de una metodología para la determinación de propiedades reológicas*. Universidad de Zaragoza.
- Nakayama, Y., & Boucher, R.F. (1999). *Introduction to Fluid Mechanics*, Arnold, London.
- National Center for Biotechnology Information (2021). *PubChem Compound Summary for CID 57369748, Lecithin from Soybean*. Retrieved June 24, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lecithin-from-Soybean>.
- National Center for Biotechnology Information (2021). *PubChem Compound Summary for CID 9843407, Polyglycerol polyricinoleate*. Retrieved June 24, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Polyglycerol-polyricinoleate>.
- Ostrowska-Ligeza, E., Marzec, A., Górska, A., Wirkowska-Wojdyła, M., Brys, J., Rejch, A., & Czarkowska, K. (2018). *A comparative study of thermal and textural properties of milk, white and dark chocolates*. Thermochimica Acta, 1-27.
- Ramirez, J.S. (2006) *Introducción a la reología de los alimentos*. Universidad del Valle – Colombia.
- Rao, M.A (1999). *Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications*. An Aspen Publication, Gaithersburg, MD.
- Rousset, P., Sellappan, P., & Daoud, P. (2002). *Effect of emulsifiers on surface properties of sucrose by inverse gas chromatography*. Journal of Chromatography A, 969, 97–101.

- Saputro, A.D., Van de Walle, D., Caiquo, B.A., Hinneh, M., Kluczykoff, M., & Dewettinck, K. (2019). *Rheological behaviour and microstructural properties of dark chocolate produced by combination of a ball mill and a liquefier device as small-scale chocolate production system*. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 100, pp. 10-19.
- S&D Sucden (2021). Obtenido de Diagrama de flujo del proceso: <https://www.sucden.com/es/products-and-services/cocoa/processflowchart/> Recuperado el 01/07/2021.
- Schantz B. & Rohm, H. (2005). *Influence of lecithin-PGPR blends on the rheological properties of chocolate*. Elsevier, 41-45.
- Schuster, G (1985). *Emulgatoren für Lebensmittel*. Akademie-Verlag.
- Sözeri Atik, D., Bölük, E., Toker, O. Said, Palabiyik, I., & Konar, N. (2020). *Investigating the effects of Lecithin-PGPR mixture on physical properties of milk chocolate*. *Lebensmittel-Wissenschaft + [i.e. und] Technologie*, 129.
- Tan, J. & Balasubramanian B.M. (2017). *Particle size measurements and scanning electron microscopy (SEM) of cocoa particles refined/conched by conical and cylindrical roller stone melangers*. *Journal of Food Engineering*, 212, pp. 146-153.
- Toker, O., Palabiyik, I., & Konar, N. (2019). *Chocolate quality and conching*. *Trends in Food Science & Technology* 91, 446-453.
- Universidad de Oviedo (2021). <https://www.sct.uniovi.es/unidades/analisis-estructural/microscopia/equipos>. Consultada el 03/07/2021.
- Van Durme J., Ingels I., & De Winne A. (2016) *Inline roasting hyphenated with gas chromatography-mass spectrometry as an innovative approach for assessment of cocoa fermentation quality and aroma formation potential*. *Food Chem.* 205:66-72.
- Verna R. (2013). *The history and science of chocolate*. *Malays J Pathol* 35: 111-121.
- World Cocoa Foundation (2021). <https://www.worldcocoafoundation.org/about-wcf/the-cocoa-supply-chain-from-farmer-to-consumer/>. Consultada el 20/06/2021.

**KFPLEC INS-62 NGM**  
**PRODUCT DATA SHEET**  
**NON GMO SOYA LECITHIN**



Company of Ruhatiya Group

**PRODUCT DESCRIPTION**

Date: 29/11/2018

Soybeanlecithin (E-322), fluid, amber-brown color.  
 According with 2008/84/EC specifications.

KFPLEC INS-62 NGM is non GMO is 100% pure Soya Lecithin, its viscous, yellow to brown liquid, mixture of phospholipids in a free flowing liquid derived from oil extraction of non GMO Soya seeds harvested & cultivated in India by degumming process. This lecithin has been obtained from traditional soya beans. The product does not content any ingredient that has been produced from any Genetically Modified Organism (GMO's). Therefore, the product has not to be labeled regarding GMO's according to the regulations (EC) 1829/2003 and 1830/2003.

**PRODUCT APPLICATION**

KFPLEC INS-62 NGM is invaluable emulsifier, stabilizer and preservative, it is a natural product has high nutritive value, emulsifying ability, easily digestive, useful for various kinds of foods such as margarines, baked goods, chocolates, ice creams, non-stick cooking sprays, biscuits, salad dressing, sauces and gravies. The benefits of lecithin are used throughout several industries from food, bakery, confectionery and cosmetics to pharma applications.

The addition of KFPLEC INS-62 NGM in chocolate councing process reduces the viscosity of the mixture of cocoa powder, sugar and cocoa butter. As a result of that, it diminishes both the energetic cost and the cocoa butter amount to be added.

In cocoa powder for instant products, KFPLEC INS-62 NGM covers the fat powders with a thin hydrophilic film, allowing the water to wet and disintegrate the agglomerates

Due to its reduced viscosity, KFPLEC INS-62 NGM is pumpable at moderate temperatures, permits automatic dosage and the supplying in containers.

Dosage: 0.3-0.5% in chocolate and 0.5-0.8% in cocoa powder for instant products.

**PRODUCT PHYSICAL & CHEMICAL ANALYSIS**

Parameter	Specification	Method of Analysis
Acetone Insoluble %	Min. 62%	AOCS Ja 4-46
Moisture %	Max 1 %	AOCS Ja 2b-37
Viscosity (25 C)	Max 120 Poise (12 Pas)	Brookfield Ja 10-87
Acid Value	Max 30 mgKOH/g	AOCS Ja 6-55
Colour Gardner	Max 12	AOCS Ja 9-87
Peroxide Value	Max 5 meq O2/Kg	AOCS Ja 8-87
Hexane/Toluene Insoluble	Max 0.3 %	AOCS Ja 3-87

For Kaluram Food Products Pvt. Ltd.

*Ruhatiya*  
 Authorized Signatory

**PRODUCT MICROBIOLOGICAL ANALYSIS**

Parameter	Specification	Method of Analysis
Total Plate Counts	Max 1000 cfu/g	ISO 4833
Enterobacteriaceae	<10 cfu/g	ISO 21528-1
Coliforms	<10 cfu/g	ISO 4832
E. Coli	Absent/g	SO 16649
Yeast & Moulds	<100 cfu/g	ISO 7954
Salmonellae	Absent/25g	ISO 6579

**REGULATIONS**

KFPLEC INS-62 NGM conforms to EU regulations 1829/2003 and 1830/2003 free from GMO-declaration and conforms Commission Regulation (EU) No 231/2012 of 9 March 2012( E322) & Codex Alimentations Lecithin (322(i) Emulsifier Lecithin.

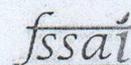
**SHELF LIFE**

KFPLEC INS-62 NGM has minimum 24 months from the date of manufacture if retained in original packing away from direct sunlight, moisture and air. Recommended Storage at ambient temperature (16-32 °C). Storage below 16 °C may cause separation of oil.

**PACKING**

ISO Bulk, 1000 Kg IBCs, 200 Kg Drum, 25 Kg Pails

Products are exclusively produced from NON GMO soybeans, every batch is analyzed for GMO content by Genetic ID. Individual Analytical report for each batch produced follow separately. Cert ID verification test according to directive 6.0 2016. Limit of Detection (per test component): 0.01%. These values are typical. Seasonal deviations may occur. All recommendations as well as formulations made herein are based on data believed to be reliable.



**KALURAM FOOD PRODUCTS PVT. LTD.**

Kirana Bazar, Akola (M.S) 444 001 (INDIA) Phone : +91724-2422381, Fax : +91724-2430604, Email : kfpppl@ruhatiyagroup.com

# VEROL PR

## DESCRIPTION

VEROL PR is a polyglycerol ester of polycondensed fatty acids made from castor oil.  
Additive for the food industry.  
In accordance with the specific purity criteria laid down in Regulation (EU) 231/2012.  
Local food laws should always be consulted regarding the use of this product in foodstuffs.

## COMPOSITION

Polyglycerol polyricinoleate (E-476).

## PHYSICOCHEMICAL SPECIFICATIONS

<i>Appearance</i>	.....	<i>viscous liquid</i>
<i>Gardner Colour</i>	.....	<i>max. 10</i>
<i>Acid value (mg KOH/g)</i>	.....	<i>max. 2</i>
<i>Iodine value (g I/100g)</i>	.....	<i>72-103</i>
<i>Hydroxyl value (mg KOH/g)</i>	.....	<i>80-100</i>
<i>Water (%)</i>	.....	<i>max. 0.8</i>
<i>Refractive Index [n]<sup>65</sup></i>	.....	<i>1.4630-1.4665</i>
<i>Lead (ppm)</i>	.....	<i>max. 2</i>
<i>Mercury (ppm)</i>	.....	<i>max. 1</i>
<i>Arsenic (ppm)</i>	.....	<i>max. 3</i>
<i>Cadmium (ppm)</i>	.....	<i>max. 1</i>

## MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS

<i>Total plate count (per g)</i>	.....	<i>max. 1000</i>
<i>Yeast and moulds (per g)</i>	.....	<i>max. 100</i>
<i>Coliforms (per g)</i>	.....	<i>absent</i>
<i>Salmonella (per 25 g)</i>	.....	<i>absent</i>

## USES

Emulsifier of high stabilising properties for water in oil emulsions. Allows manufacturing inverted emulsions with a high content of disperse phase (water) with high stability even at high temperatures. It can be used in spreads of low fat content in dosages of 0,1-0,4%.

Verol PR is very useful to reduce the Yield Value in chocolate coatings. Often used in combination with lecithin, this allows optimal results when filling a mold without defects of air bubbles or covering a candy piece with a thin even coat. Dosages of 0,1-0,3% based on total product.

## ALLERGENS

	ALLERGEN	YES	NO
01	Cereals containing gluten	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
02	Crustaceans and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
03	Eggs and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
04	Fish and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
05	Peanuts and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
06	Soybeans and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
07	Milk and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
08	Nuts and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
09	Celery and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
10	Mustard and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
11	Sesame seeds and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
12	Sulphur dioxide and sulphites at concentrations of more than 10mg/Kg or 10mg/L expressed as SO <sub>2</sub>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
13	Molluscs and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
14	Lupins and products thereof	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

## NUTRITIONAL INFORMATION

(per 100 g of product)

<i>Protein</i>	.....	<i>--</i>
<i>Carbohydrates</i>	.....	<i>--</i>
<i>Fibre</i>	.....	<i>--</i>
<i>Total fat</i>	.....	<i>100 g</i>
<i>of which</i>		
<i>saturated</i>	.....	<i>2 g</i>
<i>monounsaturated</i>	.....	<i>98 g</i>
<i>Trans fatty acids</i>	.....	<i>&lt;1 g</i>
<i>Energy</i>	.....	<i>900 Kcal</i>

## STORAGE

Keep closed in its original packaging cool and dry and away from sunlight. Recommended storage temperature below 25°C.  
Shelf life of 24 months.

## PACKAGING

18 kg buckets, 25 kg jerrycans, 180 kg drums and 900 kg IBC.

# VEROL PR

## **GMO STATUS**

The product does not contain any Genetically Modified Organism and does not contain any ingredient that has been produced from any Genetically Modified Organism.

The product has not to be labelled regarding genetically modified organisms according to regulations 1829/2003 and 1830/2003.

## **DIETARY INFORMATION**

The product is suitable for vegetarians, vegans, lactose intolerance and coeliacs.

## **BSE & TSE**

The product is free of BSE disease (Bovine Spongiform Encephalopathy) and TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy).

## **NANO-TECHNOLOGY**

The product has not gone through "nano-technology" and it has not been engineered at nano (1 to 100 nanometres) level.

## **IRRADIATION**

The product is free of irradiation; there has not been any kind of irradiation or ionization that could damage the product or the consumer.

## **ADDITIONAL INFORMATION**

The product conforms to Jewish dietary laws (Kosher) and to Islamic dietary laws (Halal).