



INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS Y PROCESADO DEL GRANO DE CACAO EN LA COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y PROPIEDADES SENSORIALES DEL CHOCOLATE NEGRO

Míriam Torres Moreno
Dipòsit Legal: T. 287-2012

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso al contenido de esta tesis doctoral y su utilización ha de respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para la consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otras utilizaciones se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos habrá que indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con finalidades de lucro ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDX. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDX (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto a los contenidos de la tesis como a sus resúmenes o índices.

Míriam Torres Moreno

**INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS Y PROCESADO DEL
GRANO DE CACAO EN LA COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y
PROPIEDADES SENSORIALES DEL CHOCOLATE NEGRO**

TESIS DOCTORAL

Dirigida por los doctores

Consol Blanch i Colat y Jordi Salas Salvadó



**UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI**

**Departament de
Bioquímica i Biotecnologia**

Reus, 2012



Consol Blanch i Colat, Professora Titular del Departament d'Indústries Agroalimentàries i Ciències Ambientals de la Universitat de Vic, adscrita al Departament de Bioquímica i Biotecnologia de la Universitat Rovira i Virgili com a col·laboradora del Programa de Doctorat en Nutrició i Metabolisme,

CERTIFICO:

Que aquest treball, titulat "Influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro", que presenta la Sra. Míriam Torres Moreno per la obtenció del títol de Doctor, ha estat realitzat sota la meva direcció en el Departament d'Indústries Agroalimentàries i Ciències Ambientals de la Universitat de Vic.

Vic, 16 de gener de 2012

La directora de la tesi doctoral

A handwritten signature in black ink, which appears to be 'C. Blanch i Colat'. The signature is written in a cursive style and is positioned above a solid horizontal line.

Dra. Consol Blanch i Colat

Departament d'Indústries Agroalimentàries i Ciències Ambientals

Escola Politècnica Superior

Universitat de Vic



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

Departament de Bioquímica i Biotecnologia

Jordi Salas-Salvadó, Catedràtic de Nutrició i Bromatologia del Departament de Bioquímica i Biotecnologia de la Universitat Rovira i Virgili,

CERTIFICO:

Que aquest treball, titulat "Influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro", que presenta la Sra. Míriam Torres Moreno per la obtenció del títol de Doctor, ha estat realitzat sota la meva direcció en el Departament de Bioquímica i Biotecnologia de la Universitat Rovira i Virgili.

Reus, 16 de gener de 2012

El codirector de la tesi doctoral

Prof. Jordi Salas-Salvadó

Unitat de Nutrició Humana

Departament de Bioquímica i Biotecnologia

Universitat Rovira i Virgili

A todos aquellos que han hecho posible este trabajo,

AGRADECIMIENTOS

Tanto tiempo esperando este momento y ahora que ya ha llegado casi no sé qué decir, ni cómo expresar tantos sentimientos.

¿Agradecimientos? Pues haber llegado hasta aquí se lo debo a mucha gente que me ha acompañado y ayudado en distinta medida en este largo proceso.

En primer lugar quería expresarle mi agradecimiento a Consol Blanch, que durante estos años con mucha paciencia me ha enseñado, me ha motivado y me ha apoyado en todo aquello que he necesitado, sobre todo en los momentos en los que todo era tan difícil.

A Jordi Salas, el codirector de esta tesis, por orientarme siempre de forma tan sabia, y especialmente por ser quién en su día me introdujo en este apasionante mundo de la investigación.

A la empresa Simón Coll, S.A. y muy especialmente al su gerente el Sr. Xavier Coll y a Marta Pavía, responsable del Departamento de I+D, por permitirnos preparar todas las muestras de chocolate en su empresa y, por su predisposición a ayudarnos siempre en todo lo que hemos necesitado. ¡Gracias por tan dulces momentos!

A la Universitat de Vic por concederme las becas de movilidad que me han permitido conocer al equipo de sensorial del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos liderado por Elvira Costell. Quiero agradecer de forma muy especial a mis colegas valencianas todo lo que me han ayudado, lo bien que me han hecho sentir siempre que he estado en su laboratorio y todo lo que he aprendido de su saber. Gracias Elvira, Imma, Amparo y Sara, y también a todas aquellas con las que coincidí durante mis estancias en el IATA y tan buenos momentos compartimos: Beatriz, Carla Arancibia, Carla Castro, Maruxa y Lina.

De forma muy especial quiero agradecerle a Amparo Tárrega su ayuda siempre que la he necesitado y sobretodo por su manera de hacerme las cosas fáciles, hasta la estadística!! ¡Gracias Amparo, sin ti no lo habría conseguido!

Gracias a todos los catadores incansables a los que les ha acabado gustando el chocolate negro. ¡Lo prometido es deuda, a partir de ahora las pruebas con jamón ibérico!!

A Eva Torrecasana y muy especialmente a Núria Barniol por su soporte con la cromatografía, cromatogramas y espectros.

Y como no, quiero dedicar este logro a mis compañeras de trabajo y mis amigas, Cristina y Anna. ¡Chicas lo he conseguido y ahora os toca a vosotras!!!

Y ya por último, y no porque los haya dejado para el final son los menos importantes, quiero dedicar este trabajo a mi familia, a mi abuela y muy especialmente a mis padres por estar siempre ahí y por hacer de mi lo que soy.

Y finalmente a tu Sergi, gracias por tu santa paciencia, por tu cariño y tu gran amor. Ara sí ho podem dir, ja la tenim aquí!

LISTA DE ABREVIATURAS

AG – Ácido graso

AGMI – Ácido graso monoinsaturado

AGPI – Ácido Graso polinsaturado

AGS – Ácido graso saturado

AMPc – Adenosín monofosfato cíclico

C16:0 – Ácido octadecanoico (palmítico)

C18:0 – Ácido hexadecanoico (esteárico)

C18:1 – Ácido 9-octadecenoico (oleico)

C18:2 – Ácido 9,12-octadecadienoico (linoleico)

CAE – Código Alimentario Español

c-HDL – Colesterol HDL

c-LDL – Colesterol LDL

ECV – Enfermedad cardiovascular

GC-MS – Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas

HS-SPME – Microextracción en Fase Sólida en el espacio de cabeza

ICCO – International Cocoa Organization

ICP – Plasma Acoplado Inductivamente

ICP-MS – Plasma Acoplado Inductivamente-Espectrometría de Masas

ISO – International Standard Organization

JAR – Just about right

LDL – Lipoproteína de baja densidad

PCA – Análisis de Componentes Principales

PLS Regression – Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales

POP – 1,3-dipalmito-2-oleína

POS – 1-palmito-3-estearo-2-oleína

SOS – 1,3-diestearo-2-oleína

TG – Triglicérido

USDA – United States Department of Agriculture

ÍNDICE

ÍNDICE

I. Introducción	1
1. El cacao	3
1.1. Historia del cacao	3
1.2. Cultivo y procesado del cacao	5
1.3. Composición del cacao	9
2. El chocolate	10
2.1. Proceso de elaboración del chocolate	10
2.2. Definición de chocolate, tendencias de mercado y consumo	14
2.3. Composición nutricional del chocolate	15
2.4. Características sensoriales del chocolate	18
2.5. El aroma y sabor del chocolate	20
2.6. Efecto del cacao y el chocolate sobre la salud	22
2.7. La calidad del chocolate	26
2.8. Dimensiones de la calidad del chocolate y factores determinantes	28
II. Objetivos	37
III. Diseño experimental	43
IV. Resultados	53
3. Presentación de los trabajos y justificación de la unidad temática	55
4. Capítulo 1: Fatty acids profile in cocoa beans and chocolate with different geographical origin and processing conditions	58
4.1. Resumen	59
4.2. Abstract	61
4.3. Introduction	62
4.4. Materials and methods	63
4.4.1. Samples	64
4.4.2. Proximate analysis	64
4.4.3. Preparation of fatty acid methyl esters (FAMES)	65
4.4.5. Chromatographic conditions	65
4.4.6. Statistical analysis	66

4.5.	Results and discussion	66
4.5.1.	Chemical composition of the unroasted cocoa beans and chocolate samples	66
4.5.2.	Fatty acids profile	69
4.6.	Conclusions	76
4.7.	Acknowledgements	76
4.8.	References	77
5.	Capítulo 2: Dark chocolate: Influence of cocoa origin and roasting time on volatile composition determined by HS-SPME/GC-MS	82
5.1.	Resumen	83
5.2.	Abstract	85
5.3.	Introduction	86
5.4.	Materials and methods	87
5.4.1.	Preparation of samples	87
5.4.2.	Determination of volatile compounds by HS-SPME/GC-MS analysis	88
5.4.3.	Data analysis	88
5.5.	Results and discussion	89
5.5.1.	Identification of volatile compounds	89
5.5.2.	Roasting time effect on volatile compounds of dark chocolates from different geographical origins	97
5.6.	Conclusions	101
5.7.	Acknowledgements	101
5.8.	References	102
6.	Capítulo 3: Dark chocolate acceptability: Influence of cocoa origin and processing conditions	105
6.1.	Resumen	106
6.2.	Abstract	108
6.3.	Introduction	109
6.4.	Materials and methods	110
6.4.1.	Samples description	110
6.4.2.	Proximate analysis	111

6.4.3.	Consumer test	111
6.4.5.	Data analysis	112
6.5.	Results and discussion	113
6.5.1.	Chemical composition of the cocoa and chocolate samples	113
6.5.2.	Acceptability of dark chocolates	114
6.5.3.	Influence of demographic characteristics and consumer habits on acceptability of dark chocolates	117
6.5.4.	Influence of individual preferences on acceptability of dark chocolates	118
6.6.	Conclusions	121
6.7.	Acknowledgements	121
6.8.	References	122
7.	Capítulo 4: Dark chocolate: Influence of cocoa origin and processing conditions on sensory characteristics and consumer liking	128
7.1.	Resumen	129
7.2.	Abstract	131
7.3.	Introduction	132
7.4.	Materials and methods	133
7.4.1.	Samples	134
7.4.2.	Sensory analysis	134
7.4.3.	Consumer test	135
7.4.4.	Data analysis	136
7.5.	Results and discussion	137
7.5.1.	Sensory profile	137
7.5.2.	Influence of geographical origin and processing conditions on sensory characteristics of chocolates	140
7.5.3.	Relationships between sensory characteristics and acceptability	142
7.6.	Conclusions	144
7.7.	Acknowledgements	144

7.8. References	145
8. Capítulo 5: Influence of label information on dark chocolate	
acceptability	149
8.1. Resumen	150
8.2. Abstract	152
8.3. Introduction	153
8.4. Materials and methods	155
8.4.1. Consumer sample	155
8.4.2. Consumer test	157
8.4.3. Data analysis	157
8.5. Results and discussion	157
8.5.1. Overall liking and purchase intention of dark chocolate samples	158
8.5.2. Comparison between expected, blind and informed liking scores	162
8.6. Conclusions	166
8.7. Acknowledgements	167
8.8. References	168
V. Discusión general de los resultados	173
VI. Conclusiones	191
VII. Bibliografía	197
VIII. Aportaciones científicas complementarias	219

I. INTRODUCCIÓN

1. EL CACAO

1.1. Historia del cacao

El término cacao (cocoa en inglés) deriva del término “*cacahuatl*” proveniente de las lenguas Mayas y Aztecas. Exactamente, según el diccionario etimológico de Joan Corominas el término cacao se tomó del *náhuatl kakáwa* (radical de kakáwatl) previa adaptación fonética y morfológica al sistema de la lengua española (Cala 2001).

El árbol del cacao, clasificado por Linneo como *Theobroma cacao* L. (en latín literalmente “cacao, alimento de dioses”), de la familia Esterculiáceas es originario de Sudamérica, concretamente de los valles del Amazonas y Orinoco (Rusconi y Conti 2010).

Los primeros cultivadores del cacao se cree que fueron o bien los olmecas, hace tres mil años, que ocupaban un área de selvas tropicales al sur de Veracruz (golfo de México), o bien los mayas, que hacia el siglo IV a.C. se habían establecido en una extensa región al sur del Méjico actual. Los mismos mayas en su expansión llevaron el cultivo de cacao hacia las tierras ocupadas por los aztecas en la historia de América Central. Para los mayas, el cacao era un símbolo de vigor físico y longevidad, y lo utilizaban con fines terapéuticos. Por sus efectos, los médicos mayas prescribían el consumo de cacao como estimulante, calmante del dolor, o bebida reconstituyente para los guerreros. La manteca de cacao también fue utilizada por los mayas como unguento para la curación de heridas (Beckett 2009).

Los aztecas impusieron el uso de las semillas del cacao como moneda de cambio para el comercio o para producir el llamado “*chocolatl*”, una bebida hecha de granos de cacao tostado y molido, mezclados con agua, a la que a menudo se le añadían otros ingredientes como vainilla, miel o especias como el chile picante, el clavo o la canela; además añadían harina de maíz como emulsionante para absorber la manteca de cacao (Whympers 1912).

Las primeras referencias que se tienen del cacao en Europa se remontan a los tiempos de Cristobal Colón y Hernán Cortés, que en su llegada al nuevo mundo probaron las bebidas a base de cacao (Afoakwa 2010). El “*chocolatl*”, que así era como se llamaba

entonces, era como un agua amarga que al inicio no impresionó ni gustó a los conquistadores.

Fue Hernán Cortés, quien a raíz de los banquetes organizados en su honor por Moctezuma II en los que probó el *chocolatl*, escribió a su rey Carlos I de España lo siguiente respecto del cacao: "*es un fruto como de almendras que venden molido y tiénela en tanto, que se trata por moneda en toda la tierra y con ella se compran todas las cosas necesarias*".

El cacao se introdujo en Europa tras la colonización de América. En 1528 se realizó el primer embarco de semillas de cacao hacia España, pero no fue hasta finales del siglo XVI cuando empezó a consumirse en forma de chocolate (Afoakwa 2010). Inicialmente estaba reservado para el consumo de la clase social más alta, y no fue hasta el siglo XVII que el consumo de chocolate se extendió por Europa. De Europa se extendió a otros continentes como el africano donde llegó hacia principios del siglo XIX. Actualmente, es en este continente donde se encuentran los grandes productores de cacao, a nivel mundial.

A medida que el consumo de chocolate se fue extendiendo, el monopolio español en la producción se convirtió en insostenible, y otros países como por ejemplo Italia, Alemania y Portugal se establecieron como grandes productores de cacao. En aquel momento el chocolate se consumía todavía en forma líquida y se vendía principalmente como bloques prensados de una masa granulada que se disolvía en agua o leche para formar una bebida espumosa de chocolate. La producción masiva de estos bloques de chocolate se inició en el siglo XVIII.

En 1728 la familia británica Fry creó la primera empresa de chocolate (Beckett 2009). Sin embargo, no fue hasta cien años más tarde que llegó la verdadera revolución en la producción de cacao y chocolate, cuando Coenraad Van Houten inventó el prensado del cacao que permitía separar la manteca del licor de cacao. El polvo de cacao resultante era mucho más fácil de disolver en agua y otros líquidos. Este fue el paso indispensable para la invención del primer chocolate sólido, realmente comestible, producido con la adición de manteca de cacao y azúcar al polvo de cacao (Dhoedt 2008). A partir de ese momento la demanda de chocolate incrementó rápidamente, lo

que supuso que la producción se mecanizara posibilitando así la formación de manteca de cacao, cacao en polvo y chocolate con leche.

Estos avances fueron seguidos por el invento de la máquina de conchar por Rudolphe Lindt en 1880, que permitió obtener un chocolate de mejor gusto y con una textura fina y cremosa (Afoakwa 2010).

Hacia 1900 la caída el precio del cacao y el azúcar comportó que el chocolate fuera accesible para la clase media y en las décadas posteriores, la incorporación de nuevas materias primeras más baratas, nuevas tecnologías de producción y comercialización, convirtieron al chocolate en un producto asequible para la mayoría de la población.

1.2. Cultivo y procesado del cacao

El cultivo del cacao requiere unas condiciones climáticas apropiadas que mayoritariamente se encuentran en el área comprendida entre los trópicos de Cáncer y Capricornio (20° al Norte y Sur del Ecuador). En esta franja, existen tres grandes áreas productoras de cacao: Oeste de África, Sureste Asiático y Sudamérica (Figura 1), siendo los países más productores a nivel mundial Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria, Camerún, Brasil y Ecuador, contribuyendo entre todos en más del 90% de la producción mundial de cacao (Afoakwa 2010).



Figura 1. Producción mundial de cacao (Fuente: ICCO 2011).

La producción anual de cacao entre los máximos productores es de aproximadamente 3.5 millones de toneladas. El 90% de la producción la realizan los grandes productores mundiales (38% Costa de Marfil, 21% Ghana, 13% Indonesia, 5% Camerún, 5% Nigeria, 4% Brasil, 3% Ecuador, 1% Malasia). Según datos de la Organización Internacional del Cacao (ICCO 2008), en el oeste africano se produce aproximadamente el 70% del cacao mundial. Existen además un número de pequeños productores de cacao denominado “fine”, que representan menos del 5% de la producción mundial de cacao (Awua 2002; Coe y Coe 1996; Schwan y Wheals 2004; Amoye 2006).

El cultivo del cacao requiere temperaturas entre 18 y 32°C, lluvias distribuidas a lo largo del año, con un rango de 1.000 a 4.000mm/año, y una humedad del 70-80% durante el día y del 90-100% durante la noche. El árbol del cacao (Figura 2), *Theobroma cacao*, L. acostumbra a crecer hasta una altura de unos 10m cuando es productivo a partir de los 4-5 años, preferiblemente bajo la sombra de otras especies de mayor envergadura, aunque los métodos actuales de cultivo los dejan crecer sólo hasta una altura de 3m para facilitar la recolección de los frutos.

a



b



c



Figura 2. Árbol de cacao (a), frutos en el tronco (b) y en las ramas (c).

Se trata de un árbol de hoja perenne y sus hojas tienen hasta unos 300mm de longitud. Las flores y los frutos crecen del tronco del árbol y de las ramas más gruesas. Los frutos son una baya grande y oval que cuando son maduros tienen una longitud variable, entre 100mm a 350mm y un peso que puede oscilar desde 200g hasta aproximadamente 1kg (Mossu 1992).

La apariencia externa es un indicador de su estado madurativo y por lo tanto del momento óptimo para la recolección; aunque, según la variedad genética existen considerables variaciones y las bayas pueden presentar distinto aspecto. Se considera que los frutos van del color verde (inmaduros) pasando por el amarillo (cuando van madurando), al rojo cuando ya son maduros y se pueden recolectar (Figura 3).

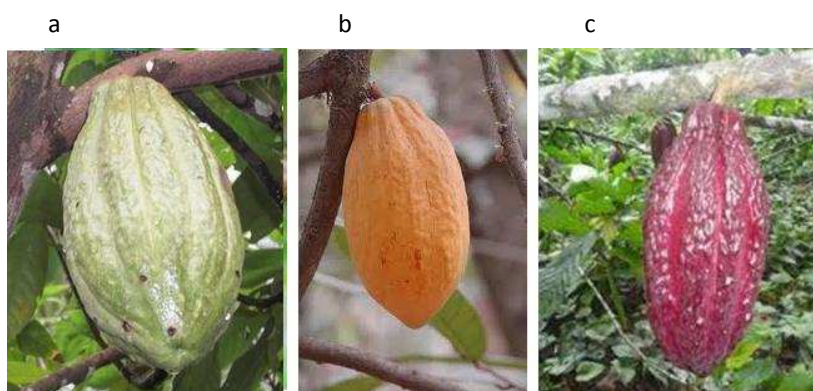


Figura 3. Fruto del árbol de cacao, a: baya verde, b: baya madura amarilla, y c: baya madura roja.

Las principales variedades del árbol del cacao (*Theobroma cacao*) son *Criollo*, *Nacional*, *Forastero* y *Trinitario* (Afoakwa 2010). La variedad *Criollo* que supone un 5% de la producción mundial de cacao es una de las variedades más apreciadas por el tipo de fruto que proporciona, pero por su susceptibilidad a padecer enfermedades es una de las que menos se cultiva. El *Nacional* tiene un aroma mucho más suave y es cultivado en Ecuador; el *Forastero* es la variedad más ampliamente cultivada sobretodo en la región del Amazonas; y el *Trinitario*, que es un híbrido entre *Criollo* y *Forastero* mucho más resistente a las enfermedades, es el cacao más utilizado en la mayor parte del mercado del cacao y del chocolate.

Dentro del fruto hay un promedio de 30-40 semillas ovaladas envueltas de una pulpa blanquecina, mucilagosa y viscosa (Figura 4).



Figura 4. Semillas del fruto del cacao.

Una vez recolectados los frutos, se dejan las semillas juntamente con la pulpa para que fermenten y se empiecen a producir toda una serie de reacciones que contribuirán al aroma y sabor finales del chocolate. Para que los granos de cacao fermenten se amontonan en pilas o en cajas de madera, durante 5 días aproximadamente. Durante el proceso, en la pulpa las levaduras naturales y las bacterias se multiplican causando la degradación de los azúcares y mucílagos.

Después de esta fase fermentativa las semillas se separan de la pulpa y se ponen a secar al sol o bien en desecadores mecánicos, en unas condiciones controladas, hasta que las semillas contengan un porcentaje de humedad de aproximadamente un 7%. Estos granos secos ya están listos para procesarse y convertirse en chocolate o productos derivados del chocolate (Figura 5).



Figura 5. Grano de cacao, a: sin fermentar y b: post fermentación y secado.

El Código Alimentario Español (CAE 1997), considerado como el texto legal de referencia a nivel alimentario en el estado Español, define la semilla de cacao como la semilla procedente del cacaotero, *Theobroma cacao* L., separada del resto del fruto, fermentada y secada. Esta semilla debe presentar como características fundamentales: a) aspecto, olor y sabor característico, b) un contenido máximo de un 7% de humedad y 5% de impurezas (granos defectuosos y otros desperdicios del cacao) en materia seca desengrasada.

1.3. Composición del cacao

El grano de cacao está formado por la semilla, que supone del 78 al 82% del peso del grano de cacao, y por la cáscara (10-16%) que la envuelve y la protege. Además, el grano contiene un pequeño porcentaje de humedad (5-8%). La composición de la semilla del cacao depende de factores como el genotipo o las condiciones de crecimiento del árbol (características del suelo, clima, horas de insolación, entre otros) (Jinap *et al.* 1995; Kattenberg y Kemmink 1993). Aproximadamente del 48 al 57% del peso de la semilla descascarillada y seca del grano de cacao corresponde a su contenido en lípidos. La fracción lipídica del cacao se conoce como la manteca de cacao y es la responsable de buena parte de las tan apreciadas propiedades sensoriales del chocolate. En la fracción grasa de la semilla de cacao, los ácidos grasos (AG) predominantes son mayoritariamente saturados (AGS), esteárico (C18:0 - 35%) y palmítico (C16:0 - 25%), pero también contiene una alta proporción de AG monoinsaturados (AGMI) representados casi exclusivamente por el ácido oleico (C18:1 - 35%) y también una pequeña cantidad de poliinsaturados (AGPI) en forma de linoleico (C18:2 - 3%). El resto corresponde a un 2-5% de agua, un 11-16% de proteínas, un 6-9% de hidratos de carbono, un 2.6-4.2% de sales minerales y otro 2.1-3.2% de fibra (Parra *et al.* 2003; Fowler 2009).

La semilla de cacao no procesada es una buena fuente de fibra, principalmente insoluble (15-20% del peso de la semilla). Durante el procesado de las semillas de cacao parte de la fibra se pierde y el contenido medio de fibra en sus derivados -como el cacao en polvo o el chocolate- es del 1 al 9%. Por tanto, sólo algunos de los derivados del cacao son una buena fuente de fibra.

Respecto al contenido en vitaminas y minerales, la semilla de cacao contiene una gran cantidad de éstos, muchos de los cuales siguen estando presentes en altas concentraciones en los subproductos, como posteriormente se muestra en el apartado 2.3 de esta introducción. Los procesos de fermentación y tratamientos térmicos a los que se somete el grano de cacao conllevan una hidrólisis de los fitatos, hecho que supone que la biodisponibilidad de los minerales que contienen los derivados del cacao no se vea afectada, ya que los fitatos contenidos naturalmente en las semillas del cacao interfieren en la absorción de ciertos minerales (Steinberg *et al.* 2003).

El cacao presenta también un contenido considerable en alcaloides de tipo base púrica, de la familia de las metilxantinas (teobromina, cafeína y teofilina), compuestos que le confieren un pequeño poder estimulante. El alcaloide mayoritario es la teobromina (metabolito de la cafeína) (nombre que deriva del género de la especie *Theobroma*). Este alcaloide representa entre el 0.8 y el 2% del contenido total de los granos de cacao desecados.

Por último, en las semillas de cacao destaca la presencia de compuestos bioactivos como los polifenoles. El contenido de estos compuestos en las semillas de cacao difiere sustancialmente del que hay en los derivados del cacao, como por ejemplo el chocolate, debido a los diferentes procesos (fermentación, secado, tostado, etc.) a los que se someten las semillas de cacao y a los ingredientes utilizados en la elaboración de las distintas fórmulas. Las semillas son ricas en flavonoides, principalmente en flavanoles, seguidos en mucha menor proporción de flavonoles, flavonas, antocianos y otros compuestos fenólicos (Sanbongi *et al.* 1998; Dreosti 2000).

2. EL CHOCOLATE

2.1. Proceso de elaboración del chocolate

En el procesado industrial del cacao para la obtención del chocolate distintas etapas son comunes entre los fabricantes (Afoakwa 2010). A continuación se detalla el proceso global de fabricación de chocolate, des del grano de cacao hasta la preparación de la tableta:

1. Lavado de los granos de cacao.

2. Tostado de los granos de cacao.
3. Descascarillado y molienda de los granos tostados.
4. Prensado del licor de cacao.
5. Mezclado de los ingredientes.
6. Refinado.
7. Conchado.
8. Atemperado.
9. Moldeado.

- **Lavado de los granos de cacao.**

Antes de iniciar el procesado del chocolate los granos de cacao son lavados para eliminar la suciedad y los cuerpos extraños.

- **Tostado de los granos de cacao.**

Los granos de cacao se tuestan para desarrollar el aroma original del cacao que existe en forma de precursores generados durante el proceso de fermentación y secado de los mismos. Durante el tostado de los granos de cacao fermentados, numerosos cambios físicos y químicos tienen lugar:

- Pérdida de la cáscara de los granos.
- Pérdida de la humedad de los granos de cacao hasta un contenido final del 2%.
- Los granos se vuelven más frágiles y generalmente más oscuros de color.
- Reducción del número de microorganismos presentes en los granos de cacao.
- Desnaturalización proteica.
- Reacción de Maillard entre grupos amino y grupos carbonilo de azúcares.
- Pérdidas de ácidos volátiles y otras sustancias que contribuyen a la acidez y amargor en el cacao.

El tiempo, temperatura y humedad utilizados durante el proceso de tostado dependen del tipo de grano y de la clase de chocolate o producto final que se quiera elaborar. Los cambios físicos y químicos que ocurren durante el tostado del cacao están relacionados con el tiempo y la temperatura del tostado, y también, con el grado de humedad que se elimine (Awua 2002).

- **Descascarillado y molienda de los granos de cacao.**

Con la finalidad de eliminar las cáscaras de los granos de cacao y dejar al grano libre, se utiliza una máquina que los descascarilla. A continuación, los granos sin cáscara son molidos hasta obtener una masa denominada licor de cacao (partículas de cacao suspendidas en manteca de cacao). El grado de molienda varía de acuerdo al tipo de grano usado y al producto que se quiera producir (por ejemplo, para la elaboración de cacao en polvo resulta especialmente importante que el grano esté molido muy fino). La viscosidad del licor de cacao está relacionada con el grado de tostado previo a la molienda y con el contenido de humedad de los granos.

- **Prensado del licor de cacao.**

El licor de cacao es prensado mediante prensas hidráulicas con el fin de desengrasarlo y obtener así la manteca de cacao, quedando una masa sólida llamada torta de cacao prensada. Dependiendo del tiempo de prensado y del tipo de prensa la torta resultante tendrá porcentajes variables de grasa.

A partir de esta etapa, el proceso de producción toma dos direcciones según se elabore cacao en polvo o chocolate. Para la fabricación del cacao en polvo, la torta prensada de cacao es quebrada en pequeños pedazos y pulverizada posteriormente para formar el polvo de cacao deseado. Sin embargo, para la elaboración del chocolate se siguen los siguientes pasos:

- **Mezcla de los ingredientes.**

En esta etapa del proceso se adicionan los ingredientes correspondientes a cada una de las fórmulas del chocolate, en base a: torta de cacao, azúcar, manteca de cacao y/o leche en polvo. Estos ingredientes se mezclan en un mezclador continuo o discontinuo, utilizando combinaciones estándar de tiempo-temperatura (normalmente 12-15 minutos a 40-50°C).

- **Refinado.**

En esta etapa la mezcla de los distintos ingredientes se refina hasta la obtención de un tamaño de partícula inferior a los 30 μm normalmente utilizando de 2 a 5 cilindros refinadores (Ziegleder y Hogg 2009). El tamaño de partícula de la fase dispersa, en particular la de las partículas más grandes, debe ser lo suficientemente pequeño para que el chocolate no se note arenoso cuando se coma.

El tamaño final de partícula tiene una influencia sustancial sobre las características reológicas y sensoriales que tendrá el producto acabado.

- **Conchado.**

El conchado se lleva a cabo normalmente con la agitación del chocolate a temperaturas superiores a los 40-50°C durante unas cuantas horas (habitualmente > 10-12h). Para proporcionar al chocolate la viscosidad deseable, puede añadirse manteca de cacao y lecitina, normalmente de soja, antes de la finalización de esta etapa (Beckett 2009; Whitefield 2005).

- **Atemperado.**

El atemperado del chocolate es el proceso en el que se consigue la cristalización de las moléculas de la manteca de cacao. El paso de la manteca de cacao de estado líquido a sólido debe realizarse en unas condiciones determinadas ya que la manteca de cacao está formada por triglicéridos diferentes, ya sea por la composición en ácidos grasos o por su posición distinta respecto al glicerol. Por esta razón cada uno de ellos tiene un punto de fusión distinto, lo que puede conllevar a distintas formas polimórficas. De las 6 posibles formas polimórficas se considera que solo una, la forma V, es estable y por tanto es la deseable, dando un aspecto brillante, buen chasquido, contracción y resistencia a la migración de grasas en el chocolate final.

Las 4 fases clave del atemperado son: fusión (a 50°C), enfriamiento hasta el punto de cristalización (a 32°C), cristalización (a 27°C) y conversión de los cristales inestables existentes (a 29-31°C) (Talbot 1999). Este proceso a nivel industrial se hace utilizando maquinaria específica, aunque todavía hay chocolateros que lo realizan a mano si producen pequeñas cantidades de chocolate.

- **Moldeado.**

El moldeado del chocolate es la última etapa del proceso en la que según el producto deseado, los productores dan forma al chocolate utilizando diferentes envases.

2.2. Definición de chocolate, tendencias de mercado y consumo

El procesado industrial del cacao por tanto, resulta un proceso complejo que requiere de numerosas operaciones. El chocolate obtenido de este proceso se define como una suspensión semisólida de partículas sólidas muy finas de azúcar y cacao, dispersas en una fase continua de grasa (Khampius 2010).

Según el Código Alimentario Español (CAE 1997) y la directiva 2000/36/CE del Parlamento Europeo (2000), el chocolate se considera un alimento estimulante y se define como el producto obtenido por la mezcla íntima y homogénea de cantidades variables de cacao en polvo o pasta de cacao y azúcar finamente pulverizada, con o sin adición de manteca de cacao, con un contenido del 35% de componentes del cacao, como mínimo. El contenido de cacao seco desengrasado no debe ser inferior al 14%, ni el de manteca de cacao inferior al 18%, todo ello expresado sobre materia seca. Se permite: a) aromatizar el chocolate y las coberturas con especias y sustancias aromáticas autorizadas, b) adicionar lecitina vegetal pura en proporción no superior al 3% (su declaración no es obligatoria) y c) reemplazar parcialmente la sacarosa por glucosa, fructosa o lactosa, en cantidades no superiores al 5% del peso total del producto terminado, sin declaración específica. Cantidades superiores precisan de su mención cuantitativa en la etiqueta (CAE 1997).

Las principales categorías de chocolate a nivel comercial son chocolate negro, chocolate con leche y chocolate con frutos secos o con cereales. Estas categorías difieren entre ellas en el contenido de cacao, leche, manteca de cacao e ingredientes como cereales o frutos secos, y por lo tanto en su aporte energético y contenido nutricional en hidratos de carbono, grasas, proteínas, minerales y vitaminas (USDA 2010). El chocolate blanco, aún denominándose chocolate a nivel comercial, según el CAE (1997) se considera dentro de la categoría de los derivados especiales del cacao,

del chocolate y de la manteca de cacao. En concreto, se trata de un derivado de la manteca de cacao que se define como una mezcla en distintas proporciones de manteca de cacao, azúcar y componentes naturales de la leche. El chocolate blanco, debe tener un contenido mínimo del 20% de manteca de cacao, 14% de los componentes sólidos de la leche y un máximo del 55% de azúcar.

En los últimos años, el consumidor se ha vuelto más sofisticado y se interesa, cada vez más, por una mayor variedad de chocolates y productos a base de chocolate (Afoakwa 2010).

La demanda de chocolate negro está especialmente en aumento, estimándose que entre un 8-10% de las ventas de chocolate en tableta corresponden a este tipo. Como apuntan algunos autores (Lambert 2009; Afoakwa 2010), parece ser que la popularidad del chocolate negro ha aumentado paralelamente a los hallazgos científicos acerca de su impacto positivo sobre la salud, como posteriormente se explicará en el apartado 2.5 de esta introducción.

Por otro lado, el mercado del chocolate Premium, representa un mercado dinámico y de crecimiento rápido en muchas partes del mundo. Se entiende por productos Premium, según define Quelch (1987), aquellos que combinan una excelente calidad, altos precios, distribución a través de los canales de mayor calidad y una moderna inversión en publicidad. Especialmente ello ocurre en Europa, Estados Unidos o países con economías emergentes como Rusia o China, con ventas globales que crecen año tras año. Las variedades Premium suponen alrededor del 10% del total del mercado del chocolate. Así pues, dada la orientación y el crecimiento del mercado del chocolate negro y Premium son muchas las empresas que están desarrollando sus productos en esta área.

En la mayor parte de países europeos el consumo anual medio de chocolate es de 8 kg por persona (ICCO 2008). El consumo per cápita tiende a ser mayor en los países del Norte de Europa o en aquellos con una gran tradición chocolatera como Suiza, Reino Unido, Bélgica, Alemania e Irlanda.

2.3. Composición nutricional del chocolate

A nivel dietético el chocolate se considera un alimento superfluo por su elevado contenido en energía y azúcares; y es por ello, que algunos autores lo han denominado “junk food” (comida basura) (ICCO 2005).

La composición nutricional del chocolate depende del contenido de sólidos de cacao, de azúcar u de otros ingredientes, como por ejemplo la leche o los frutos secos.

En la tabla 1 se recoge el contenido en energía de distintos tipos de chocolate, expresado en kilocalorías (Kcal). Como muestran los datos, se trata de un alimento de elevado contenido calórico ya que todos los chocolates reseñados contienen más de 500 kcal por cada 100 g de producto. Concretamente, en el caso del chocolate negro, a mayor contenido de cacao mayor aporte energético. Ello se debe, a que al aumentar el contenido de sólidos de cacao aumenta el contenido total de grasa y disminuye el de azúcar, y cada gramo de grasa aporta más del doble de kilocalorías que un gramo de azúcar (9 kcal/g y 4 kcal/g respectivamente).

Los hidratos de carbono son la fracción mayoritaria en cuanto a macronutrientes de la mayor parte de derivados del cacao. El contenido total en hidratos de carbono varía entre el 45 y el 65% del aporte calórico total en función del tipo de chocolate. Dicha fracción corresponde casi totalmente a hidratos de carbono simples, ya que se trata de un producto transformado con una elevada proporción de azúcar (sacarosa) como ingrediente.

El contenido graso del chocolate resulta destacable (del 29 al 43%), y corresponde sobre todo a manteca de cacao. Los ácidos grasos (AG) predominantes en esta fracción grasa son mayoritariamente saturados (18-25%), esteárico y palmítico, pero también contiene una alta proporción de ácido oleico (7-13%) y una pequeña cantidad de poliinsaturados en forma de ácido linoleico (<1.5%).

En la manteca de cacao, los ácidos grasos están organizados como triglicéridos (TG). Los AG mayoritarios en los TG son de ácido oleico, palmítico y esteárico (POP, POS y SOS) (Simoneau *et al.* 1999; Segall *et al.* 2005). La estructura de los triglicéridos afecta directamente al comportamiento del chocolate durante el procesado industrial y a las características finales del producto como la textura, la viscosidad, la fusión en boca, el sabor y el aroma (Afoakwa 2010).

En el chocolate con leche a la fracción grasa original se le suma aquella de origen lácteo, fundamentalmente saturada, si bien continúa predominando la manteca de cacao en su composición final.

La fracción proteica del chocolate resulta baja comparativamente con la de hidratos de carbono o la de lípidos, variando de un 4-8% según el tipo de producto. En el caso del chocolate con leche la biodisponibilidad y el valor biológico de las proteínas lácteas es superior, ya que de por sí, la proteína del cacao es de bajo valor biológico, con algunos aminoácidos esenciales limitantes (como la metionina, isoleucina o la treonina). En consecuencia, esto hace que la calidad proteica, determinada según el cómputo de aminoácidos corregidos por la digestibilidad proteica, sea inferior en el chocolate negro, respecto al chocolate con leche, o incluso a la de otros productos animales como la carne, el pescado o los huevos (Pérez-Llamas *et al.* 2010).

Como se ha descrito con anterioridad en el apartado 1.3, la semilla de cacao no procesada es una buena fuente de fibra, principalmente insoluble; sin embargo, una vez que las semillas son procesadas y convertidas en derivados del cacao, pierden parte de la fibra que contenían. Como se muestra en la tabla 1, en el caso del chocolate negro el contenido medio de fibra es del 7 al 11% dependiendo del contenido total de cacao. En el caso del chocolate blanco el contenido de fibra es prácticamente nulo; ya que, el chocolate blanco está elaborado a partir de la manteca de cacao y no de sólidos de cacao, en los cuales se encuentra localizada la fibra. Por lo tanto, sólo algunos de los derivados del cacao pueden considerarse una buena fuente de fibra.

El contenido en minerales varía en función de los ingredientes utilizados, siendo el potasio el mineral mayoritario (559-715mg en 100g de chocolate negro), aunque también destaca el contenido en magnesio (146-228mg en 100g de chocolate negro) o en fósforo (206-308mg en 100g de chocolate negro).

En el caso de las vitaminas, el contenido también se ve afectado por el resto de ingredientes del chocolate siendo la niacina (0.7-1.1mg en 100g de chocolate negro), la vitamina A (39-50UI en 100g de chocolate negro) o la vitamina E (0.5-0.6mg en 100g de chocolate negro), algunas de las mayoritarias.

Tabla 1. Composición en macro y micronutrientes de distintos tipos de chocolate (gramos de nutriente/100 g de alimento) (Fuente: USDA 2010).

Compuestos	Cacao en polvo	Chocolate negro 45-59% cacao	Chocolate negro 60-69% cacao	Chocolate negro 70-85% cacao	Chocolate blanco	Chocolate con leche
Energía (kcal)	228.0	546.0	579.0	598.0	539.0	535.0
Proteína (g)	19.6	4.9	6.1	7.8	5.9	7.7
Lípidos (g)	13.7	31.3	38.3	42.6	32.1	29.7
AG saturados (g)	8.1	18.5	22.0	24.5	19.4	18.5
AG monoinsaturados (g)	4.6	9.5	11.5	12.8	9.1	7.2
AG poliinsaturados (g)	0.4	1.1	1.2	1.3	1.0	1.4
Hidratos de Carbono (g)	57.9	61.2	52.4	45.9	59.2	59.4
Fibra (g)	33.2	7.0	8.0	10.9	0.2	3.4
Calcio (mg)	128.0	56.0	62.0	73.0	199.0	189.0
Hierro (mg)	13.9	8.0	6.3	11.9	0.2	2.4
Magnesio (mg)	499.0	146.0	176.0	228.0	12.0	63.0
Fósforo (mg)	734.0	206.0	260.0	308.0	176.0	208.0
Potasio (mg)	1524.0	559.0	567.0	715.0	286.0	372.0
Sodio (mg)	21.0	24.0	10.0	20.0	90.0	79.0
Zinc (mg)	6.8	2.0	2.7	3.3	0.7	2.3
Cobre (mg)	3788.0	1.0	1.3	1.8	0.1	0.5
Manganeso (mg)	3837.0	1.4	1.3	2.0	0.0	0.5
Selenio (µg)	14.3	3.0	8.4	6.8	4.5	4.5
Niacina (mg)	2185.0	0.7	0.8	1.1	0.7	0.4
Vit. A (UI)	0.0	50.0	50.0	39.0	30.0	195.0
Vit. E -a-tocoferol- (mg)	0.1	0.5	0.6	0.6	1.0	0.5
Cafeína (mg)	230.0	43.0	86.0	80.0	0.0	20.0
Teobromina (mg)	2057.0	493.0	632.0	802.0	0.0	205.0

Además, cabe destacar la presencia de pequeñas cantidades de algunos compuestos que presentan importantes efectos sobre el organismo. Entre los más significativos destacan: los compuestos fenólicos, los fitoesteroles o los alcaloides de tipo metilxantinas, como la teobromina (Waterhouse *et al.* 1996; Porter *et al.* 1991; Wollgast y Anklam 2000; Karen *et al.* 2007; Sánchez-Rabaneda *et al.* 2003a).

2.4. Características sensoriales del chocolate

A pesar de las propiedades nutricionales y de los posibles beneficios que pueda tener el consumo de chocolate para la salud, se trata de un producto que se consume por las propiedades sensoriales que tiene. Especialmente por su sabor único que lo hace uno de los productos más frecuente e intensamente deseados en todo el mundo (Rozin *et al.* 1991; Weingarten y Elston 1991).

Las características sensoriales del chocolate están relacionadas con la composición del grano de cacao y las propiedades intrínsecas del mismo y éstas dictan su elección y aceptabilidad por parte de los consumidores. Estas propiedades se originan en los

precursores del aroma que están presentes en los granos de cacao, en los tratamientos post-cosecha y finalmente se transforman en las características sensoriales del chocolate durante el proceso de fabricación, en el cual se desarrollan también las propiedades organolépticas más ligadas al aspecto y a la textura. Además de los factores inherentes mencionados, los ingredientes utilizados y las técnicas de procesado también influyen en que la calidad sensorial final del chocolate, concretamente en la apariencia, olor, aroma, gusto, sabor o flavour y textura (Afoakwa 2010).

La apariencia es el conjunto de atributos que percibimos a través de la vista. Estos atributos no sólo influyen en la elección del producto y aceptación del mismo, sino que también afectan al sabor, al placer y disfrute por parte de los consumidores. Algunos de los atributos sensoriales más utilizados para evaluar la apariencia del chocolate son: color, brillo, fusión en la mano y aspecto de la superficie.

El olor es el atributo sensorial que se percibe a través de la nariz, o más propiamente dicho, a través del sistema nasal, donde la nariz es la parte externa. En el interior de la nariz y de la zona facial cercana a la nariz existen regiones cavernosas cubiertas de la mucosa pituitaria, la cual conduce hacia células nerviosas y sus terminales que reconocen los diversos olores y transmiten al cerebro la sensación olfativa. Dichas sustancias se difunden a través de la membrana mucosa para, finalmente, ponerse en contacto con las terminales nerviosas mencionadas. El cerebro interpreta la señal correspondiente a cada sustancia como un olor. Hay que diferenciar entre olor y aroma. El primero es la percepción de sustancias volátiles por medio de la nariz, en cambio el aroma es la detección después de haberse puesto el alimento en la boca. En el caso del aroma el aire no es el medio de transmisión de la sustancia, sino la membrana de la mucosa del paladar (Anzaldúa-Morales 1994). Si bien, en muchos casos son términos que se utilizan de forma sinónima. Algunos de los términos más utilizados para describir el olor del chocolate son: cacao, chocolate, caramelo, tostado, fruto seco, vainilla, afrutado o floral (Afoakwa 2010).

El gusto o sabor básico de un alimento es la propiedad detectada por medio de la lengua a través de las papilas gustativas (Afoakwa 2010). Existen 5 gustos básicos: ácido, dulce, salado, amargo y umami. La percepción de estos gustos se debe a un

reconocimiento químico de la estructura de las sustancias por medio de las papilas, que generan un mensaje nervioso que llega al cerebro donde es interpretado. El gusto del chocolate está sobretodo influenciado por los ingredientes del mismo (sólidos de cacao, manteca de cacao, azúcar, lecitina y aromas como la vainilla).

El sabor o flavour del chocolate es una combinación compleja de las sensaciones olfativas, gustativas y trigeminales que se perciben durante el consumo del producto, aunque se estima que buena parte del sabor de un alimento se debe al aroma.

Por último, la textura es la propiedad sensorial de los alimentos que se detecta por los sentidos del tacto, la vista y el oído, y que se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación (Anzaldúa-Morales 1994). Por ello, no podemos hablar de la textura de un alimento como si fuera una sola característica de éste, sino que más concretamente hay que referirse a las características de textura del alimento. En el caso del chocolate la textura es la característica física más compleja y, conjuntamente con el flavour, la propiedad que más influye en la preferencia del producto. Una amplia variedad de términos se utilizan para describir la textura del chocolate, dependiendo de si se hace incapié en la estructura, consistencia o sensación en la boca, como dureza al morder, suavidad, adhesividad, granulosis, fusión en boca o recubrimiento, entre otros. En el chocolate negro, los atributos de textura están influenciados por el tamaño de partícula y su distribución en la matriz de chocolate, el contenido total de grasa y de lecitina (Afoakwa 2010; Beckett 2009).

2.5. El aroma y sabor del chocolate

El secreto del aroma y sabor del chocolate se debe fundamentalmente a la fracción volátil del producto, que se relaciona con diversos factores: el genotipo del cacao, las condiciones de crecimiento del árbol del cacao, el proceso de fermentado, secado y tostado y también con el conchado del chocolate, como anteriormente se ha descrito en el apartado 2.1.

El estudio de los componentes volátiles del chocolate se remonta a hace más de cien años, cuando en 1912 Bainbridge y Davies identificaron el linalol, algunos ésteres, y algunos ácidos en las semillas de cacao. A partir de entonces han sido muchos los estudios que han tratado de dilucidar cuales son los compuestos volátiles responsables del olor y sabor del cacao y del chocolate (Afoakwa *et al.* 2008).

Actualmente, más de seiscientos compuestos volátiles han sido identificados en el cacao, chocolate negro y chocolate con leche, si bien, como se trata de una matriz alimentaria muy compleja, a medida que avanza el perfeccionamiento de las técnicas cromatográficas como la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas o la cromatografía de gases-olfactometría se van identificando nuevos compuestos. Los compuestos volátiles presentes son de naturaleza química muy diversa incluyendo aldehídos, ácidos, cetonas, ésteres, furanos, pirazinas, pirroles o fenoles. Se trata de compuestos que también están presentes en diversos productos alimentarios, como los frutos secos, las especias o incluso la hierba mate (Aceña *et al.* 2010; Elmore *et al.* 2005; Krist *et al.* 2004; Heck *et al.* 2007), de lo cual se desprende que la interacción entre los compuestos es lo que condiciona el característico aroma y sabor del chocolate.

Los resultados existentes hasta el momento han permitido conocer no sólo los compuestos presentes, sino también cuáles de ellos son determinantes en el aroma y sabor del chocolate. Así, algunos aldehídos, pirazinas y el ácido acético se han revelado como compuestos clave del aroma y el sabor final a chocolate. Entre los aldehídos más importantes que contribuyen al intenso aroma de chocolate se encuentran: 2-nonenal, 2-octenal, 2-furanaldehído, 2-metilbutanal, 2-metilpropanal, acetaldehído, benzaldehído, hexanal o fenilacetaldehído (Counet *et al.* 2002; Schnermann y Schieberle 1997; Praag *et al.* 1968; Frauendorfer y Schieberle 2008). Las pirazinas (2,3-dietil-5-metilpirazina; 2-etil-3,5-dimetilpirazina; trimetilpirazina o tetrametilpirazina) formadas durante el tostado del cacao, como los aldehídos, contribuyen a las notas aromáticas de tostado, fruto seco o café (Schnermann y Schieberle 1997). El ácido acético, aún contribuyendo a las notas aromáticas de ácido, astringente o vinagre, resulta un elemento de gran importancia en el aroma final del producto, ya que es uno

de los compuestos más abundantes entre los componentes volátiles del chocolate (Frauendorfer y Schieberle 2008).

Otros muchos compuestos clave identificados son: a) ácidos, como el butanoico, pentanoico, hexanoico y fenilacético; b) alcoholes, como el linalol, 2-feniletanol; c) pirroles, como el pirrol, 2-acetilpirrol o furfurilpirrol; d) cetonas, como la propanona, 2-butanona o la 2,3-butanodiona y e) furanos, como 3-fenilfurano, furfural o furaneol (Frauendorfer y Schieberle 2008; Dimick y Hoskin 1999).

Sin embargo, resulta escasa la evidencia en la que se estudie el efecto de las condiciones del procesado, como la fermentación, secado, tostado y conchado, o de los ingredientes adicionados, sobre el perfil de compuestos volátiles del cacao o del chocolate, aún siendo elementos clave que condicionan el aroma y el sabor final del producto.

En la actualidad, el desarrollo y perfeccionamiento de nuevas herramientas de análisis como las narices electrónicas o la cromatografía de gases acoplada a olfactometría se están revelando como herramientas que pueden ser muy útiles para profundizar en el conocimiento de la composición de compuestos volátiles de los alimentos.

Por otro lado, si bien se conoce la composición en compuestos volátiles de los alimentos, la liberación de estos compuestos durante la comida es más desconocida y compleja, ya que se ve afectada por diferentes factores, tales como la temperatura, su concentración, el tiempo transcurrido en la boca o el grado de fusión de la grasa (Taylor y Linforth 1996). En este sentido, hasta la fecha resultan también escasos los estudios que permitan explicar la liberación de los compuestos volátiles en boca cuando se ingiere el chocolate (Linforth *et al.* 2002; Piggott y Schaschke 2001).

Entender los mecanismos por los cuales los compuestos volátiles de los alimentos se perciben resulta una herramienta indispensable para la industria alimentaria ya que contribuirá, entre otros, a la mejora de las propiedades de olor, aroma y flavour finales del producto.

2.6. Efecto del cacao y el chocolate sobre la salud

A lo largo de la historia un consumo excesivo de chocolate se ha asociado con ciertos riesgos o problemas de salud como el sobrepeso o la obesidad, la diabetes, la caries dental, el acné o la migraña. Hoy en día muchos de estos problemas de salud asociados al consumo de chocolate no han podido ser científicamente probados (ICCO 2005). En este sentido, en septiembre de 2004, el Comité de Promoción del ICCO (International Cocoa Organization) consideró la necesidad de promover una campaña para contrarrestar las alegaciones negativas realizadas sobre el chocolate y la obesidad, enfatizando los aspectos nutricionales positivos del cacao y el chocolate; para tal fin, se elaboró un documento de consenso “Inventory of the Health and Nutritional attributes of cocoa and chocolate” (ICCO 2005). Tras esta iniciativa, se declaró que el chocolate podía formar parte de una alimentación saludable cuando se consumía con moderación. De manera que en el contexto de una alimentación y estilos de vida saludables (práctica de ejercicio físico regular), se puede comer chocolate con moderación sin riesgo de ganancia ponderal.

En la actualidad, son numerosas las líneas de investigación que están estudiando el efecto del chocolate como alimento capaz de prevenir diferentes enfermedades crónicas (Weisburger 2001; Franco *et al.* 2004; Ding *et al.* 2006; Motofsky *et al.* 2010) y cada vez más se está convirtiendo en un alimento al que la mayoría de investigadores atribuyen efectos más beneficiosos que perjudiciales.

Como demuestra la evidencia científica, a mayor contenido de sólidos de cacao en el chocolate, mayores parecen ser los beneficios para la salud tras su ingestión (ICCO 2005), puesto que se conservan la mayor parte de los compuestos presentes en el grano de cacao, especialmente los compuestos antioxidantes del grupo de los flavonoides.

Las principales actividades beneficiosas atribuidas al cacao y chocolate se resumen en:

- Prevención frente enfermedades cardiovasculares.

Los efectos antioxidantes de los flavonoides del cacao han estado ampliamente estudiados tanto *in vitro* por su habilidad de eliminar las especies radicales o por su capacidad quelante de metales prooxidantes (Wan *et al.* 2001), como *in vivo* por la capacidad de retardar la oxidación de las LDL (Kondo y Hirano 1996; Wang *et al.* 2000).

Numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los flavonoides del cacao pueden modular la función plaquetaria, reduciendo la trombogénesis mediante diferentes mecanismos, basados principalmente en la inhibición de la hemostasis primaria y otras vías asociadas con la activación y agregación plaquetaria (que incluyen la síntesis de eicosanoides, peróxidos de hidrógeno, movilización del calcio, inhibición del inositol fosfato y modulación de las concentraciones de AMPc) (Holt *et al.* 2002c; Murphy y Chropoulos 2003; Steinberg *et al.* 2003).

En la mayoría de las enfermedades cardiovasculares (ECV), incluyendo la aterosclerosis y la insuficiencia cardíaca crónica, hay signos de inflamación aguda o crónica. Los factores desencadenantes y mecanismos que conducen a la inflamación pueden variar entre las distintas condiciones clínicas, pero existen muchos mediadores comunes pro-inflamatorios, incluyendo los eicosanoides y las citoquinas. La evidencia experimental demuestra, en ensayos *in vitro*, que algunos flavonoides derivados del cacao podrían reducir la producción y el efecto de mediadores pro-inflamatorios, ya sea directamente o actuando sobre las vías de señalización (Selmi *et al.* 2006; Selmi *et al.* 2008; Schewe y Kühn 2002). Otros compuestos del cacao como la epicatequina y procianidinas han demostrado también ser efectivas *in vitro* en la proliferación celular frente la acción del peroxinitrito, inhibiendo las reacciones de oxidación y nitración causadas por este compuesto.

El cacao podría además ser beneficioso en las alteraciones que implican una activación anómala de la respuesta inmune. El extracto fenólico del licor de cacao ha demostrado *in vitro* un efecto modulador de la función inmunitaria al inhibir la producción de peróxidos, todos ellos muy oxidantes (peróxido de hidrógeno y anión superóxido) por parte de linfocitos y granulocitos activados, y la proliferación de células T, así como la proliferación de linfocitos y la producción de inmunoglobulinas (Sanbongi y Suzuki 1997; Mao *et al.* 2000; Holt *et al.* 2002c).

Además, por su perfil lipídico el chocolate tiene un efecto hipocolesteromiente (Kris-Etherton y Mustad 1994; Kris-Etherton *et al.* 1999; Thijssen y Mensink 2005). Wan y colaboradores (2001) demostraron un aumento del 4% en las concentraciones medias de colesterol HDL tras ingerir durante 4 semanas 22g de cacao en polvo y 16g de chocolate negro al día. Mursu y colaboradores en el año 2004, demostraron también

un incremento de las concentraciones plasmáticas de c-HDL tras la toma diaria de 75g de chocolate negro durante 3 semanas, sin que se modificara la fracción LDL. En 2006 Kurlandsky y Stote demostraron que el consumo durante 6 semanas de 41g de chocolate negro al día se asociaba a una mejoría en los niveles totales de triglicéridos plasmáticos.

- Prevención frente al cáncer.

Algunas investigaciones han descrito el efecto beneficioso de ciertos compuestos del cacao como los flavonoles, las catequinas y las procianidinas, en la progresión tumoral (Carnésecchis y Schneider 2002; Yamagishi y Natsume 2003; Arts *et al.* 2002).

Sin embargo, a pesar de los estudios existentes, Maskarinec (2009) en su trabajo de revisión, apunta que aún habiendo numerosos estudios epidemiológicos observacionales hasta el momento, existen insuficientes evidencias del papel que el cacao puede tener en la prevención del cáncer y la mortalidad por cáncer. Por ello, sugiere que los estudios a realizar en un futuro deberían: a) evaluar un mayor número de marcadores biológicos relevantes para el riesgo de desarrollar cáncer, b) utilizar métodos válidos de evaluación dietética para examinar mejor la asociación entre el consumo de los productos de cacao con el riesgo de padecer cáncer, c) estudiar poblaciones más grandes y d) distinguir entre los posibles efectos protectores de los productos de cacao y/o de otros alimentos también ricos en polifenoles.

- Prevención de enfermedades neurodegenerativas.

El estrés oxidativo se ha asociado con la pérdida neuronal en las enfermedades neurodegenerativas, y con la pérdida cognitiva asociada a la edad. Investigaciones recientes han demostrado que los flavonoides del cacao, a nivel del sistema nervioso central protegen a las neuronas contra el daño producido por las neurotoxinas y reducen la inflamación a nivel neuronal (Spencer *et al.* 2001; Shimada *et al.* 2001). Por ello, podrían considerarse agentes protectores frente a la apoptosis neuronal causada por el estrés oxidativo, promoviendo la memoria, el aprendizaje y la función cognitiva (Spencer 2009).

Por tanto, el consumo de alimentos ricos en flavonoides, como el cacao y el chocolate, podría limitar la neurodegeneración asociada a una serie de trastornos neurológicos y

con ello prevenir o revertir el deterioro cognitivo normal o asociado a otros trastornos. En ese sentido Williams y Spencer (2011) en su reciente investigación concluyen que los flavonoides podrían tener incluso una potencial utilidad frente a la enfermedad de Alzheimer, previniendo la progresión neurodegenerativa y promoviendo el rendimiento cognitivo.

2.7. La calidad del chocolate

Como ya hemos comentado, el procesado industrial del chocolate resulta un proceso complejo en el que la manipulación de las distintas operaciones y los distintos ingredientes influirán en sus características, especialmente en los atributos sensoriales y, en consecuencia, en la calidad del producto final que se obtenga. ¿Pero qué entendemos por un producto de calidad?

El término calidad aún siendo muy utilizado y, en muy diversos contextos, tiene un significado que está frecuentemente poco claro, ya que cuando se analiza detenidamente tiene significados distintos para diferentes estamentos y personas. Existen un número importante de definiciones del término calidad, que varían ampliamente desde definiciones sencillas como *“adecuación para el uso al que se destina”* propuesta por Juran (1974) o la propuesta por Deming (Beamon y Ware 1998) *“contribución a la satisfacción de las necesidades de los clientes”*; a otras mucho más complejas como la propuesta por Molnar (1995): *“la calidad de productos alimentarios, en conformidad con los requerimientos y aceptabilidad de los consumidores, es determinada por sus características sensoriales, composición química, propiedades físicas, nivel de contaminantes microbiológicos y toxicológicos, vida útil, envase y etiquetado”*.

A nivel internacional la ISO (International Organization for Standardization) (1986) define el término calidad como *“la totalidad de rasgos y características de un producto que influyen en su capacidad para satisfacer las necesidades explícitas o implícitas”*.

Cualquiera de estas definiciones del término calidad puede ser útil en determinados contextos pero ninguna de las definiciones existentes resulta totalmente satisfactoria.

Así, para Fishken (1990) calidad es un término difuso y relativo que se encuentra en constante movimiento. En este mismo sentido, como propone Costell (2002), cualquier especificación, método o grupo de métodos diseñados para el control de calidad de un determinado producto, serán aplicables en una situación particular pero estarán sujetos a una evolución constante. Así Peri (2006) propone un modelo dinámico de la calidad alimentaria, que como muestra la Figura 6, el universo de la calidad está representado como un circuito que va de los consumidores a los productores y viceversa.

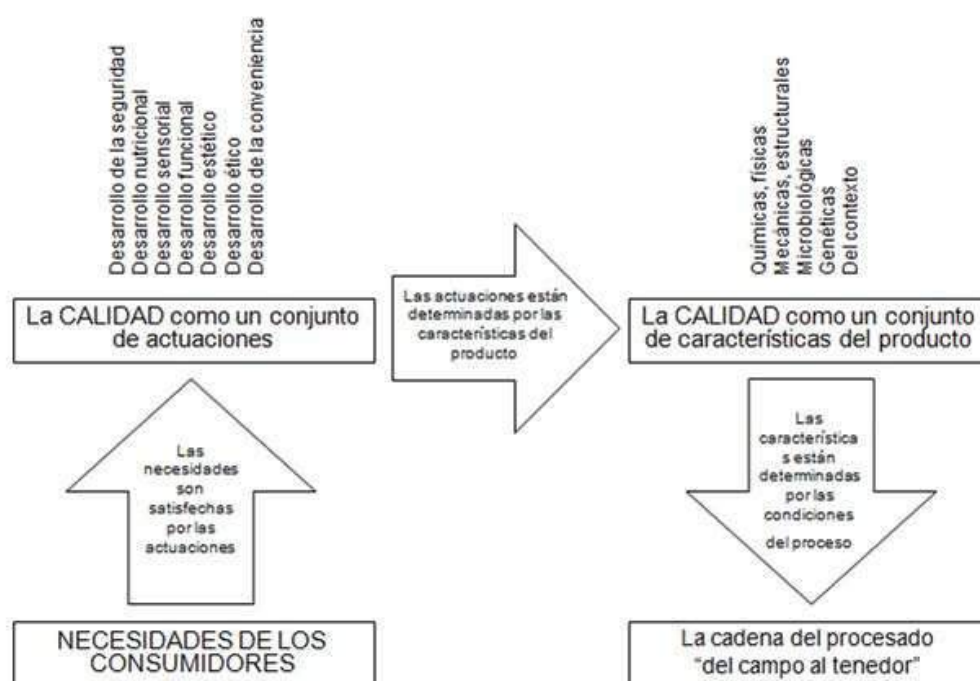


Figura 6. Modelo dinámico de calidad alimentaria (Fuente: Peri 2006).

En este circuito, los consumidores expresan sus expectativas y necesidades. Estas necesidades supondrán una serie de actuaciones a nivel de la industria alimentaria que llevará a cabo el desarrollo de productos alimentarios con unas determinadas características. Sin embargo, cabe destacar que en el pasado pocas empresas se

interesaban por comprender el comportamiento del consumidor. Por el contrario, estaban enfocadas a seguir la pista a los resultados de las ventas, sin preocuparse mucho por lo que los consumidores hacían o dejaban de hacer. Sin embargo, los rápidos cambios en el entorno del marketing, indujeron a los gerentes de las empresas a analizar más de cerca los factores que influían en la elección de un producto por parte de los consumidores.

Sin embargo, actualmente existe un gran interés por proporcionar beneficios a los consumidores, aprender acerca de sus actitudes cambiantes, y conocer las percepciones de los consumidores más influyentes. Así, las compañías o los productos más exitosos son aquellos que consiguen la información que identifica y que explica las necesidades y comportamiento de los consumidores. Por tanto, dentro de los requerimientos estratégicos de cualquier empresa está la importancia de obtener información sobre las necesidades del consumidor, sus percepciones con respecto a las marcas, sus actitudes hacia esas marcas, su intención de compra y su comportamiento post-compra.

2.8. Dimensiones de la calidad del chocolate y factores determinantes

Diversos autores han tratado de definir los atributos o dimensiones que son más relevantes para la calidad de un producto (Garvin 1984) o servicio (Evans y Lindsay 2008). Luning y colaboradores (2002) propusieron una serie de dimensiones especialmente relevantes en el caso de los alimentos. Las dimensiones de la calidad alimentaria dependen de atributos intrínsecos (características físico-químicas, composición nutricional, características organolépticas y seguridad microbiológica y toxicológica) y extrínsecos (precio, marca, envase, información del etiquetado, ...).

En general, la evaluación de los atributos intrínsecos (físico-químicos, nutricionales y seguridad microbiológica y toxicológica) conlleva la selección de los parámetros a analizar y la selección de los métodos más adecuados para realizar dicho análisis. Estos análisis se llevarán a cabo por el instrumento de medida idóneo. En cambio, cuando se realiza el análisis de las propiedades organolépticas y por tanto se valora la calidad

sensorial de los alimentos, la evaluación no resulta tan sencilla dado que el individuo es el instrumento de medida.

La calidad sensorial está relacionada tanto con las características intrínsecas del alimento como con la interacción entre el alimento y el consumidor, tal y como proponen Costell (2002) o Ophuis (1995), los cuales consideran que la valoración de la calidad de un alimento depende del juicio del consumidor.

La calidad organoléptica de un producto juega un papel muy importante en la satisfacción del consumidor, pudiendo influenciar la elección del mismo en el momento de la compra y también, modificar el grado de placer que éste experimente cuando consuma el producto. Así, los atributos sensoriales tales como la apariencia, el olor, el aroma, el gusto, el sabor o la textura, contribuyen en distinto grado en la aceptabilidad de un producto alimentario.

Entre los factores que afectan a la calidad del chocolate, los procesos post-cosecha del grano de cacao (como la fermentación y secado) son determinantes por tener una gran influencia en la calidad del aroma y sabor final del chocolate (Kattenberg y Kemmink 1993; Clapperton *et al.* 1994). Durante la fermentación, se generan los ácidos acético y láctico que producen una acidificación de los granos de cacao. Hay un aumento significativo de compuestos volátiles como alcoholes, ácidos orgánicos y aldehídos y también, se desarrollan numerosos precursores de compuestos volátiles característicos del aroma y del sabor del chocolate. Los chocolates elaborados con granos de cacao poco fermentados tienen un sabor muy amargo y astringente, con poco sabor de chocolate y presentan un aspecto marrón grisáceo (Afoakwa *et al.* 2008).

Tras la fermentación, los granos de cacao se secan al sol. En esta etapa se inicia la reacción de Maillard y se generan los primeros compuestos intermedios de la reacción como los compuestos de Amadori, los cuales conducirán al color característico de los granos, y también se sintetizarán los precursores de los compuestos volátiles (Jinap y Dimick 1990; Rodríguez-Campos *et al.* 2011).

El tostado del grano de cacao, refinado, conchado y atemperado son los factores clave del procesamiento industrial del chocolate que influyen en su calidad final (Afoakwa 2010).

Numerosos autores han estudiado los cambios que suceden en las propiedades físicas y químicas durante las diversas etapas del procesado del chocolate, aunque en pocas referencias se han estudiado los cambios que se producen teniendo en cuenta el proceso globalmente.

El tostado del cacao es una de las fases que supone más cambios en el producto final. Estos cambios están relacionados fundamentalmente con el tiempo y la temperatura aplicados (Jinap *et al.* 1998). Durante el tostado no sólo se generan nuevos compuestos volátiles sino que disminuye la concentración o incluso desaparecen algunos como el ácido acético, cítrico o succínico (Keeney 1972; Hernández y Rutledge 1994).

Una vez tostados los granos de cacao se muelen hasta obtener el licor de cacao. La finura de la masa dependerá de su uso final, como ya se ha comentado anteriormente en el apartado 2.1 de esta introducción. El tamaño de partícula influye en la percepción sensorial de la harinosidad, en la percepción de la fusión del producto en boca, en el sabor, en el color y en el brillo. La fusión en boca se define como la capacidad que tiene el chocolate de pasar del estado sólido a temperatura ambiente a una suspensión densa de gran suavidad en la boca a temperatura corporal, cuando se presiona la porción de chocolate entre la lengua y el paladar. Esta característica facilita la percepción de los atributos de aroma y sabor.

El refinado del chocolate supone una reducción del tamaño de partícula y es una etapa importante para obtener la textura final deseada, que afectará tanto a las propiedades reológicas del producto como a las sensoriales (Afoakwa 2008).

El conchado por su parte se considera una etapa fundamental del procesado del chocolate que contribuye al desarrollo de la viscosidad y la textura final del producto. Durante esta etapa se produce una mejoría del aroma final del chocolate, ya que aumentan algunos compuestos volátiles mientras que otros, especialmente los asociados al mal olor, se pierden por evaporación, dado su bajo peso molecular y punto de ebullición. La modificación del tiempo o temperatura de conchado puede modificar la viscosidad, textura final y aroma del chocolate (Counet *et al.* 2002; Afoakwa 2010).

Finalmente, el atemperado es esencial para obtener la cantidad y tipo de cristales de manteca de cacao deseados, pudiendo influenciar la calidad de ciertas propiedades finales como el color, “*fat bloom*” (separación de la grasa y migración a la superficie, originando una fina película blanquecina), dureza y características de vida útil (Adoakwa 2008). Un buen atemperado supone que el producto final sea más estable (cristalización de los TG con predominio del polimorfo β o V), más resistente a la temperatura y que en general, proporcionará un producto que tendrá una vida útil mayor (Afoakwa 2010).

Aún teniendo en cuenta y controlando los aspectos que afectarán a la calidad final del chocolate, el éxito de un chocolate en el mercado va a depender de que el producto responda a las necesidades del consumidor, y además, del grado de satisfacción que le proporcione (Heldman 2004). Por ello, la opinión del consumidor debe ser tomada en cuenta no sólo para evaluar la aceptabilidad del producto final sino desde el inicio del proceso de su desarrollo (Moskowitz y Hartmann 2008; Tuorila y Monteleone 2009). Resulta pues necesario investigar la influencia que tiene la composición y la interacción entre los distintos ingredientes sobre las propiedades físicas y sensoriales del producto para optimizar la aceptabilidad del mismo, así como para estudiar la influencia de las opiniones, actitudes y expectativas del consumidor.

Tradicionalmente, la investigación sobre la aceptabilidad de los alimentos se ha basado en el análisis de la relación entre las características del alimento (composición, estructura y propiedades físicas) y la aceptabilidad del producto por parte del consumidor. Actualmente, el planteamiento es distinto: no todas las diferencias en composición, estructura o propiedades físicas del alimento dan lugar a diferencias perceptibles sensorialmente, ni todas las diferencias sensoriales percibidas provocan cambios en la aceptación del alimento (Costell *et al.* 2010).

Son numerosas las investigaciones que se han planteado para estudiar las actitudes y la percepción del consumidor respecto a los productos alimentarios y también para dilucidar qué factores interactúan en sus respuestas (Prescott y Bell 1995; Rozin 1996; Bolling Johansen *et al.* 2010). Si bien las características sensoriales de los alimentos son los factores más importantes a la hora de elegir y consumir un alimento, los factores

no sensoriales, tales como la información sobre el producto (marca, precio, información nutricional), las características individuales (datos sociodemográficos y estilos de vida), las actitudes y creencias (conveniencia, propiedades saludables o seguridad), también resultan muy importantes. Estos últimos factores condicionan la elección del consumidor en el momento de la compra y, asimismo, pueden modificar el grado de placer experimentado al consumir el producto (Mela 2001; Sabbe *et al.* 2009b; Caporale y Monteleone 2001; Guinard *et al.* 2001; Di Monaco *et al.* 2005).

Durante los últimos años se está ampliando y modificando la metodología aplicable al estudio de los factores que influyen en la aceptabilidad de los alimentos. Para ello se han incorporado técnicas que permiten evaluar la influencia de las expectativas del consumidor en la aceptabilidad del producto (Newsholme y Wong 2001). Las expectativas afectan las reacciones y decisiones que diariamente se suceden entre la gente, bien de forma consciente o inconsciente (Deliza y MacFie 1996). El concepto de expectativa ha sido utilizado durante muchos años y como propuso Olson y Dover (1979), en el ámbito de la tecnología alimentaria las expectativas pueden definirse como los prejuicios que un consumidor tiene respecto a un producto. A menudo antes de probar un producto, el consumidor tiene una idea preconcebida de cómo serán las características del mismo (expectativas sensoriales), así como cuanto le gustará o no (expectativas hedónicas). Por lo tanto, las expectativas influirán en el consumidor en la elección del alimento antes de consumirlo y en su posterior aceptación o rechazo, tras la ingestión del mismo. Estas expectativas se originan por la experiencia que previamente el consumidor haya tenido con dicho producto, en cuanto al producto en sí mismo, su apariencia, información en el etiquetado o las características del envase (Varela *et al.* 2010). La respuesta del consumidor dependerá de que el producto satisfaga o no sus expectativas (Cardello 1994). Aunque, si las expectativas del producto son altas, éste no será aceptado si al consumidor no le satisface el sabor u otros atributos sensoriales del mismo (Bech-Larsen y Scholderer 2007; Tuorila y Cardello 2002; Verbeke 2006). Hecho que resulta especialmente importante en el caso del chocolate, al ser este un producto que se consume especialmente por su sabor.

Cuando el producto se elige y se prueba, las expectativas sensoriales y hedónicas del producto se comparan con las características reales del mismo, llevando a confirmación o desconfirmación (Deliza y MacFie 1996). Si al compararlas las expectativas no coinciden con las características reales del producto se produce disconformidad, positiva o negativa dependiendo de si el producto resulta mejor o peor de lo esperado (Cardello 1994). Si la disconformidad es negativa, el consumidor probablemente rechazará el producto y no lo volverá a comprar (Deliza y MacFie 1996). Por el contrario, si la disconformidad es positiva, el consumidor aceptará el producto y probablemente lo volverá a comprar. Para explicar como la disconformidad creada por las expectativas puede influir sobre la aceptabilidad se han propuesto diferentes modelos: 1) *asimilación*, cuando la evaluación del producto (sensorial o hedónica) se modifica en la misma dirección que la expectativa; 2) *contraste*, cuando la evaluación del producto cambia en dirección opuesta a la expectativa; 3) *asimilación-contraste*, que explica el efecto de las expectativas en función de la magnitud de la no confirmación; y 4) *negatividad generalizada*, que explica los comportamientos que se producen cuando la no confirmación da lugar a una disminución en la aceptabilidad del producto. Estos modelos han sido descritos ampliamente en investigaciones sobre distintos tipos de productos alimentarios (Villegas *et al.* 2008; Lange *et al.* 1999; Varela *et al.* 2010; Ares *et al.* 2010). Por tanto, la habilidad en establecer las expectativas sobre un producto alimentario se convierte en una estrategia esencial para la industria alimentaria para poder promover la satisfacción sensorial del consumidor cuando pruebe el producto (Deliza *et al.* 2003).

En el caso del mercado del chocolate, las estrategias más utilizadas para atraer la atención del consumidor (Afoakwa 2010) han sido el desarrollo de productos distintivos con información en el etiquetado tal como: un alto porcentaje de cacao, origen único o de comercio justo, entre otros. Estas estrategias pueden ser una buena oportunidad para los fabricantes, siempre y cuando los productos cumplan las expectativas de los consumidores. Sin embargo hasta la fecha, son escasos los estudios que se han centrado en la investigación del efecto de la información del etiquetado del chocolate sobre las expectativas del consumidor.

Con la presente tesis se pretende dilucidar la influencia de las características y de las condiciones de procesado del grano de cacao en las características físico-químicas, propiedades sensoriales y en la aceptabilidad del chocolate negro. Se pretende también estudiar la influencia que la información del etiquetado en chocolates comerciales tiene sobre las expectativas, la aceptabilidad y la intención de compra por parte del consumidor.

II. OBJETIVOS

Los objetivos generales de esta tesis fueron:

- Estudiar la influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro, y
- Estudiar la influencia que las propiedades no sensoriales del chocolate negro tienen sobre las expectativas del consumidor.

Para conseguirlo, se establecieron los siguientes objetivos específicos:

- Analizar la influencia del origen del cacao y de las condiciones de procesado del chocolate negro sobre su contenido total de grasa y su perfil de ácidos grasos y de compuestos volátiles.
- Analizar la influencia del origen del cacao y de las condiciones de procesado del chocolate negro sobre las propiedades sensoriales del mismo y su aceptabilidad por parte de los consumidores.
- Estudiar cómo la información del etiquetado influye en las expectativas, la aceptabilidad y en la intención de compra de chocolate negro comercial por parte de los consumidores.

III. DISEÑO EXPERIMENTAL

El planteamiento experimental para conseguir los objetivos de esta tesis se describe a continuación en dos apartados que corresponden a: muestras de estudio y metodología.

En cada uno de los capítulos que forman el apartado de resultados de esta tesis se presentan con detalle las condiciones experimentales utilizadas en cada caso.

MUESTRAS DE ESTUDIO

La elaboración de las muestras utilizadas a lo largo de esta tesis se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa chocolatera Simón Coll, S.A. situada en Sant Sadurní d'Anoia. Los cacaos seleccionados fueron de 2 orígenes geográficos distintos, Ecuador y Ghana. Las condiciones de procesado estudiadas fueron: 3 tiempos de tostado y 2 tiempos de conchado. Por tanto, la combinación de las diferentes condiciones llevó a la obtención de un total de 12 muestras, 6 para cada uno de los orígenes de cacao.

En la Figura 7 se presenta un esquema del proceso de elaboración de las muestras de chocolate experimentales, en el cual también quedan descritas las condiciones de obtención características de cada una de ellas.

Para estudiar la influencia de las propiedades no sensoriales, en concreto la información del etiquetado, sobre las expectativas del consumidor en chocolates comerciales se utilizó el diseño experimental de la Figura 8. Como muestra la misma figura la combinación de los diferentes elementos llevó a la selección de un total de 6 muestras comerciales de chocolate, 3 de marca líder y 3 de marca blanca.

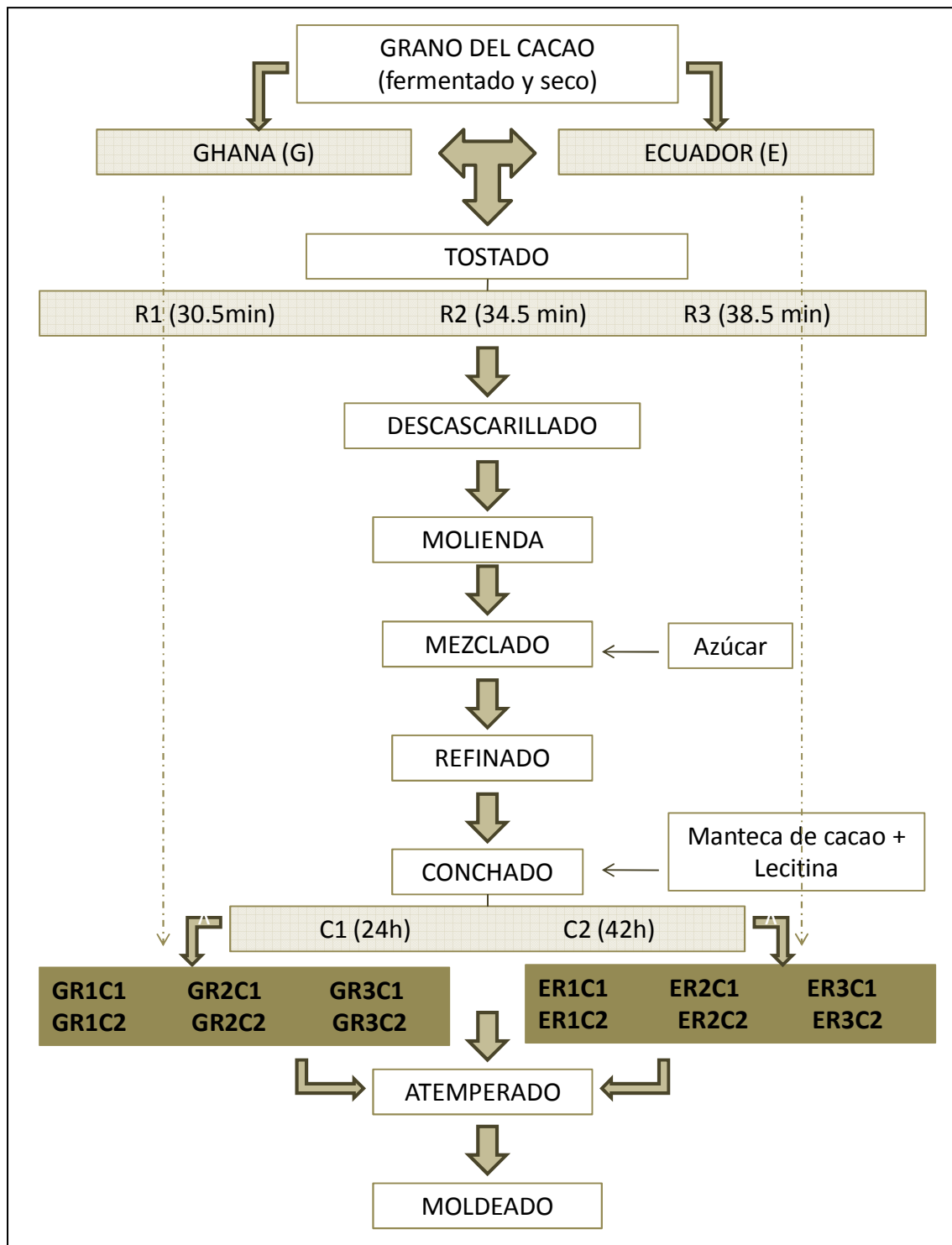


Figura 7. Proceso de elaboración de las 12 muestras de chocolates experimentales: Ghana (GR1C1, GR1C2, GR2C1, GR2C2, GR3C1 Y GR3C2) y Ecuador (ER1C1, ER1C2, ER2C1, ER2C2, ER3C1 Y ER3C2).

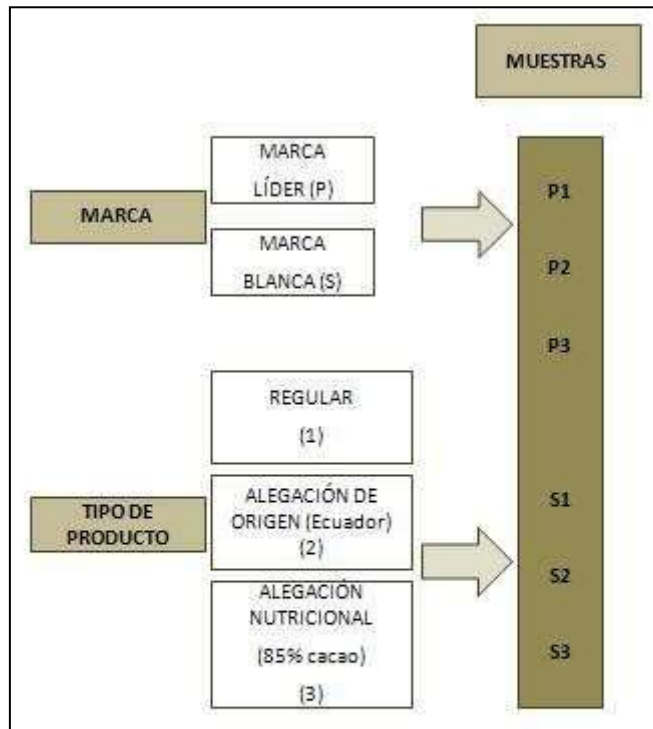


Figura 8. Descripción de las 6 muestras comerciales de chocolate utilizadas en esta tesis: marca líder (P1, P2 y P3) y marca blanca (S1, S2 y S3).

METODOLOGÍA

Los procedimientos analíticos experimentales utilizados fueron distintos en función de si las determinaciones se realizaban sobre las muestras de cacao, chocolate elaborado experimentalmente o muestras de chocolate comercial. También, dependiendo de si se trataba de caracterizar parámetros físico-químicos o sensoriales de las muestras.

En la tabla 2 se detallan los métodos utilizados en las distintas determinaciones, así como el tratamiento estadístico de los datos utilizado en cada caso.

Tabla 2. Metodología experimental utilizada en la tesis.

MUESTRAS	DETERMINACIONES		MÉTODO ANALÍTICO	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DATOS	
CACAO	COMPOSICIÓN CENTESIMAL	Humedad	AOAC (1995)	ANOVA	
		Cenizas			
		Proteína			
		Carbohidratos			
		Fibra			
		Grasa			
	MINERALES	Ca, Mg, K, P y Fe	ICP	ANOVA	
		Mn, Cu, Zn, Se y Na	ICP-MS		
	PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS	Ésteres metílicos de AG	CG-MS	ANOVA	
CHOCOLATE EXPERIMENTAL	COMPOSICIÓN CENTESIMAL	Humedad	AOAC (1995)	ANOVA	
		Cenizas			
		Proteína			
			Carbohidratos		
			Fibra		
			Grasa		
	PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS	Ésteres metílicos de AG	CG-MS	ANOVA	
	COMPUESTOS VOLÁTILES	Compuestos volátiles	HS-SPME/GC-MS	ANOVA PCA	
	PRUEBAS SENSORIALES	Consumidores	Prueba hedónica	ANOVA Chi Cuadrado de Pearson Kruskal-Wallis Análisis de conglomerados	
		Catadores entrenados	Perfil sensorial descriptivo	ANOVA PCA PLS	
CHOCOLATE COMERCIAL	PRUEBAS SENSORIALES	Consumidores	Prueba ciego, expectativas e informado	ANOVA PCA T-Student	

Abreviaturas: AG: Ácido Graso; ICP: Plasma Acoplado Inductivamente; ICP-MS: Plasma Acoplado Inductivamente-Espectrometría de Masas; GC-MS: Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas; HS-SPME: Microextracción en Fase Sólida en espacio de cabeza; PCA: Análisis de Componentes Principales; PLS: Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales.

I. RESULTADOS

PRESENTACIÓN DE LOS TRABAJOS Y UNIDAD TEMÁTICA

A continuación se presentan los trabajos que configuran los resultados de esta tesis así como la justificación de la unidad temática de los mismos.

Las publicaciones incluidas en la Tesis “Influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro” se dividen en cinco capítulos:

Capítulo 1.

Torres-Moreno, M., Torrecasana, E., Salas-Salvadó, J. and Blanch, C. Fatty acids profile in cocoa beans and chocolate with different geographical origin and processing conditions. *Food Chemistry*, en revisión.

Capítulo 2.

Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Salas-Salvadó, J. and Blanch, C. Dark chocolate: Influence of cocoa origin and roasting time on volatile composition determined by HS-SPME/GC-MS. *Journal of Food Engineering*, en revisión.

Capítulo 3.

Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Costell, E. and Blanch, C. (2011). Dark chocolate acceptability: Influence of cocoa origin and processing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, DOI: 10.1002/jsfa.4592.

Capítulo 4.

Torres-Moreno, M., Costell, E. and Blanch, C. Dark chocolate: influence of cocoa origin and processing conditions on sensory characteristics and consumer liking. *Journal of Sensory Studies*, sometido.

Capítulo 5.

Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Torrescasana, E. and Blanch, C. (2011). Influence of label information on dark chocolate acceptability. *Appetite*, DOI: 10.1016/j.appet.2011.12.005.

En los dos primeros capítulos se incluye la información referente a la caracterización físico-química de las muestras de chocolate negro. El primer trabajo se centra en el estudio de la composición centesimal y del perfil lipídico de las muestras, mientras que el segundo capítulo se centra en la caracterización de los compuestos volátiles de los chocolates. En ambos casos se trata de parámetros que en el chocolate constituyen un criterio básico de calidad y resultan factores determinantes de las características finales del chocolate y por tanto son requisitos clave para la aceptación del producto por parte del consumidor.

En los dos capítulos se aborda además el estudio de la influencia del origen geográfico del grano de cacao y las condiciones de procesado sobre la composición físico-química del chocolate.

Una vez caracterizadas las muestras de chocolate negro a nivel físico-químico, el tercer capítulo trata de dilucidar la aceptabilidad global de las muestras elaboradas por parte de los consumidores, así como la aceptabilidad de algunos atributos percibidos sensorialmente, concretamente el color, el olor, el sabor y la textura.

El capítulo cuarto aborda el estudio de las características sensoriales de los chocolates mediante un panel entrenado, así como la relación entre las propiedades sensoriales del chocolate con la aceptabilidad por parte de los consumidores para así establecer qué atributos conducen a la aceptabilidad o rechazo (“drivers of liking and disliking”) de los chocolates estudiados.

Por último, en el capítulo quinto, se estudia la influencia de ciertos atributos no sensoriales, concretamente la información del etiquetado, sobre las expectativas, aceptabilidad e intención de compra por parte del consumidor respecto muestras de chocolate negro comerciales.

Todos los trabajos de esta tesis están orientados hacia el mismo fin, establecer la relación entre las características del grano de cacao y las condiciones de procesado del

chocolate negro y la composición físico-química, propiedades sensoriales y aceptabilidad del mismo. De esta manera se pretende poder definir, hasta que punto, el origen del cacao, las condiciones de procesado y la información del etiquetado pueden modificar dichas propiedades y actitudes y así, poder establecer criterios que permitan abordar con mayores garantías el desarrollo de chocolate negro de gran calidad sensorial y aceptabilidad por parte de los consumidores.

CAPÍTULO 1.

FATTY ACIDS PROFILE IN COCOA BEANS AND CHOCOLATES WITH DIFFERENT GEOGRAPHICAL ORIGIN AND PROCESSING CONDITIONS

M. Torres-Moreno^{1*}, E. Torrecasana¹, J. Salas-Salvadó² and C. Blanch¹

¹ Food Science Research Group. Universitat de Vic. Sagrada Família 7, 08500 Vic,
Barcelona (Spain).

²Human Nutrition Unit, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, IISPV, Universitat
Rovira i Virgili, Reus (Spain) and CIBERobn Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición,
Instituto de Salud Carlos III, Madrid (Spain).

Food Chemistry, en revisión.

RESUMEN

El chocolate es un producto elaborado a partir de las semillas del cacao. De estas semillas, la manteca de cacao se considera el subproducto de mayor importancia, debido a sus características físicas (reología y textura), químicas y organolépticas, que pueden comportar innovaciones específicas muy interesantes para la industria agroalimentaria y, en concreto, para la industria chocolatera.

El objetivo del presente trabajo fue el de cuantificar el contenido total de grasa y caracterizar el perfil de ácidos grasos en semillas de cacao de distinto origen geográfico, y del chocolate negro elaborado con las mismas y sometido a diferentes condiciones de procesado, concretamente distintos tiempos de tostado y de conchado.

En los granos de cacao el nutriente mayoritario fue la grasa (>40%) y la composición nutricional dependió del origen geográfico, siendo el cacao de Ecuador más rico en lípidos. En el chocolate negro en cambio, el nutriente mayoritario fueron los azúcares (>55%); y al igual que en los granos de cacao la composición nutricional de azúcares y grasa sólo dependió del origen geográfico, siendo también más ricos en lípidos los chocolates de Ecuador.

Al estudiar el perfil de ácidos grasos (AG) de las muestras seleccionadas se identificaron 15 AG. Tanto para los granos de cacao como para el chocolate las diferencias se explicaron fundamentalmente por la procedencia geográfica.

En ambos productos, semillas de cacao y chocolate negro, los ácidos grasos mayoritarios fueron, C16:0, C18:0, C18:1 y C18:2. En el caso del chocolate, las muestras de Ecuador presentaron un perfil de ácidos grasos más cercano al saludable con un mayor contenido en AG insaturados (C18:1 y C18:2) y C16:0, así como un menor contenido en C18:0 que las de Ghana.

Podemos concluir que sólo la procedencia geográfica tuvo un efecto significativo en la composición nutricional tanto de los granos de cacao como de los chocolates. Por su perfil de ácidos grasos el chocolate puede ser considerado como una fuente

importante tanto de ácidos grasos insaturados como de saturados, especialmente ácido esteárico, compuesto que aunque de naturaleza saturada ha demostrado tener un efecto neutro para la salud humana. Además se demuestra que a la hora de formular chocolates, la elaboración con cacao de origen único, en este caso Ecuador, permite obtener chocolates con propiedades más saludables.

ABSTRACT

Total fat content and fatty acids (FA) profile was determined in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions (roasting and conching time). Fifteen FA were identified in the cocoa and chocolates studied. Both, for unroasted cocoa beans and chocolate samples differences in FA profile were mainly explained by the geographical origin effect, and not by processing conditions in chocolates. For cocoa bean samples differences in FA profile were found in C12:0, C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1 and C18:0 while for chocolate samples only differences were found in C16:0, C18:0, C18:1 and C18:2. For all samples, C16:0, C18:0, C18:1 and C18:2 were quantitatively the most important FA. Ecuadorian chocolates were those with healthier FA profile having higher amounts of unsaturated FA and lower amounts of saturated FA than Ghanaian chocolates.

Keywords: cocoa beans, chocolate, total fat, fatty acids profile, GC-MS.

1. Introduction

Chocolate is a product obtained from cocoa beans, the fruit of the cocoa tree (*Theobroma cacao* L.) that grows in Central and South America and in West Africa (Rusconi and Conti, 2010).

In the formulation of chocolate the key ingredients are: cocoa solids, cocoa butter, sugar, and lecithin as an emulsifier. However, the great diversity of products on the market is obtained by incorporating other ingredients to the formulations, such as nuts, fruits or cereals. The main commercial chocolate categories are dark, milk and white chocolates, differing in their content of cocoa solids, milk fat and cocoa butter.

Chocolate and chocolate products are characterized as products with high energy and nutritional density. Energy content in chocolate and chocolate products reaches over 3000 kcal/kg of product and chocolate's nutritional composition corresponds to its high content in carbohydrates and fats. Carbohydrates are mainly represented as sugars, with a total content of up to 45%, and fat, with a total content of up to 30%. Chocolates also contain minerals, specially potassium, magnesium, copper and iron (USDA, 2010). The content of each of the nutrients in chocolate depends, among other factors, on the cocoa solids percentage that chocolate has. When the cocoa solids content of chocolate increases, the percentage of carbohydrates decreases with respect to an increment in total fat content. As a result, chocolates with a higher cocoa solids contents are fattier and, in consequence, high calorie products (USDA, 2010).

Regarding the chemical composition, chocolate and chocolate products can be considered as a dense suspension of solid particles (sugar, cocoa and milk mixture, depending on type) dispersed in a continuous fat phase, which is mostly composed of cocoa butter (Khampius, 2010; Nickless, 1996).

Cocoa butter is considered the cocoa by-product of greatest importance, due to its physical (rheology and texture), chemical characteristics and organoleptic qualities, (Lipp and Anklam, 1998), which produce specific functional properties of great demand in the food industry. These special characteristics, which are not comparable with any other edible vegetable fat are very useful in the manufacture of a great variety of products in the chocolate, cosmetic and pharmaceutical industries. Fatty acids (FA)

identification and quantification, in cocoa butter, is of enormous interest for research and development laboratories, and also, in processing and quality control during manufacture.

The amount of cocoa butter and the fatty acid profiles in chocolate products depends on the growing conditions of cocoa beans. In cocoa butter, fatty acids are organized as triacylglycerol (TAG), the majority of these TAG's being 2-oleyl glycerides (O) of palmitic (P) and stearic (S) acids (POP, POS, SOS) (Simoneau, Hannaert and Anklam, 1999; Segall, Artz, Raslan, Ferraz and Takahashi, 2005). This structure of TAG affects directly the way chocolate behaves in the manufacturing process and the characteristics of the final product (texture, viscosity, melting behaviour, flavour and taste) (Afoakwa, 2010).

Epidemiologic data have shown that fatty acids profile in foods has a direct impact on human health (Hu, Stampfer, Manson, Ascherio, Colditz, Speizer, Hennekens and Willett, 1999; López-Huertas, 2009; Solfrizzi, D'Introno, Colaccio, Capurso, Palasciano, Capurso, Torres, Capurso and Panza, 2005). It has been generally accepted that unsaturated fats have a hypocholesterolemic effect, while saturated fats tend to raise total cholesterol and low density lipoproteins (LDL) levels. The latest dietary reference intakes for fat for a healthy population are from 20 to 35% of total diet energy content. Saturated fatty acids (SFA) content must be as low as possible while consuming a nutritionally adequate diet. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) must represent a 10% maximum of total calories and monounsaturated fatty acids (MUFA) should be the major ones (Food and Nutrition Board, 2005).

In this sense, recently, for chocolate new perspectives have been opened in the cardiovascular field; so in this way, dark chocolate consumption could provide a beneficial effect due to the features of its chemical composition (Grassi, Lippi, Necozione, Desideri and Ferri, 2005; Grassi, Desideri and Ferri, 2010; Ding, Hutflless, Ding and Girotra, 2006).

The aim of this work was to determine the total fat content and the fatty acids profile of cocoa beans and chocolate samples with different geographical origin and processing conditions in order to assess their nutritional value.

2. Materials and methods

2.1. Samples

Two groups of six dark chocolate samples with different geographical origin cocoa beans (Ecuador and Ghana), varying in processing conditions, three roasting times (R1=30.5, R2=34.5 and R3=38.5 min) and two conching times (C1=24 and C2=42 h), were used in this study. Chocolates containing 51% (w/w) of cocoa were prepared in a chocolate factory (Chocolates Simón Coll, S.A. from Sant Sadurní d'Anoia, Barcelona, Spain) following a traditional chocolate manufacturing process (Beckett, 2008) as described in a previous study (Torres-Moreno, Tarrega, Costell and Blanch, 2011).

2.2. Proximate analysis

The unroasted cocoa beans and the chocolate samples were analyzed in duplicate for moisture, ash, protein, total fat and total dietary fibre content following the AOAC methods for cacao beans and its products (AOAC, 1995). Total carbohydrate content was estimated by difference.

Moisture contents of the samples was determined by the gravimetric method by drying 2 g of grinded sample at $103 \pm 2^\circ\text{C}$ to constant weight in an air oven. Ash contents was determined by using a muffle furnace at $550\text{-}600^\circ\text{C}$ for 4 h. Fat was determined in a Soxhlet apparatus using petroleum ether as solvent of extraction. Total organic nitrogen was determined by using the macro Kjeldahl procedure. Protein content of samples was calculated using 6.25 as the conversion factor (Protein = Nitrogen * 6.25). Crude fibre content was determined by the AOAC method for cocoa products not containing dairy ingredients (AOAC, 1995).

Mineral composition of unroasted cocoa samples was analyzed in triplicates. First, a microwave digestion (Milestone Ethos plus, 220°C ; HNO_3 : H_2O_2 , 1:1 v/v) was used to eliminate organic matter before samples were analyzed. Calcium (Ca), Magnesium (Mg), Potassium (K), Phosphorus (P) and Iron (Fe) were all determined by using the ICP method (Thermo Jarrell-Ash model 61E Polyscan); Manganese (Mn), Copper (Cu), Zinc (Zn), Selenium (Se) and Sodium (Na) were analyzed using the ICP-MS method (Agilent model 7500 CE). Calibration was made with 5 acidic standard solutions in HNO_3 1% by volume, for each of the studied elements.

All reagents and solvents used were of analytical grade or chromatographic grade and were obtained from Panreac and Sigma-Fluka (Barcelona, Spain).

2.3. Preparation of fatty acid methyl esters (FAMES)

FAMES were prepared according to the AOAC official method 948.22 (AOAC, 1990b). For each sample 2 derivatizations were prepared.

The FAMES were obtained from the lipid fractions after alkaline hydrolysis (NaOH/methanol 0.5 mol L⁻¹), followed by methylation with boron trifluoride 14% in methanol. Samples were extracted with heptane and washed with saturated sodium chloride solution. 1 mL of the organic phase was purified through a micro column fitted with anhydrous sodium sulphate and then eluted with 2 mL of heptane. Finally the eluate was evaporated to dryness over N₂ and reconstituted with 1 mL of dichloromethane for the chromatographic analysis.

2.4. Chromatographic conditions

Analysis of total FAMES was performed on a GC 8000 Thermo Quest gas chromatograph coupled to a Voyager MD800 Finnigam Mass Spectrometer Detector.

The analytical column was a fused-silica TRB-WAX polyethyleneglycol capillary column (60 m x 0.25 mm I.D., 0.2 µm film thickness; Teknokroma, Barcelona, Spain).

1 µL of sample was injected in a split/splitless injector set at 250°C. The GC was setup with helium as a carrier gas at a constant flow of 1.2 mL/min. The oven temperature programme was: 40°C (5 min); to 100°C (10 min) at 5°C/min; to 190°C (20 min) at 3°C/min; to 240°C (5 min) at 5°C/min.

Detection was carried out with a MD800 mass-selective single quadrupole, using electron-impact ionization (70eV), detector at 550V, source temperature at 200°C, a scan range of 50-450 amu (scan time of 0.9 s and an inter scan delay of 0.1 s). Two replicates were injected for each sample.

Components identification was based on comparison of its mass spectra with those of the US National Institute of Standards and Technology (NIST) database 98 library of mass spectra, considering peak base, molecular masses and characteristic mass losses. Complementary, standard fatty acid methyl esters (FAMES) of palmitic, stearic, oleic

and linoleic acids were used for the confirmation of the GC-MS libraries results, by comparing the peaks in the analyzed chocolate samples with retention times and mass spectra of known standards (Supelco Bellefonte, USA). Quantification of the fatty acids' methyl ester profiles was done considering the relative areas of peaks.

2.5. Statistical analysis

A one factor ANOVA was used to study the effect of cocoa origin on proximates and minerals content and on the fatty acid profile of unroasted cocoa bean samples.

A three factor ANOVA with interactions was used to study the effect of cocoa origin, roasting time and conching time on proximates content and on the fatty acid profile of chocolate samples.

The significance of differences between means was established using Tukey's test ($\alpha \leq 0.05$).

All the analyses were carried out with XLSTAT Pro software version 2009 (Addinsoft, France).

3. Results and discussion

3.1. Chemical composition of the unroasted cocoa beans and chocolate samples

The chemical composition of the unroasted cocoa beans from Ghana and Ecuador is shown in Table 1. For both origins fat was the majority nutrient ($> 40\%$), followed by carbohydrates ($> 32\%$) and proteins (12-13%). Fibre content was from 11-19% and ash and moisture contents were less than 6%. The cocoa beans' composition varied depending on geographical origin. Ghanaian and Ecuadorian bean samples have significantly different contents of moisture ($F = 544.96$, $p = 0.002$), carbohydrates ($F = 499.50$, $p = 0.002$), fibre ($F = 1218.51$, $p = 0.001$) and fat ($F = 59.83$, $p = 0.016$). Ecuadorian cocoa beans showed higher moisture (5.95%), fibre (19.47%) and total fat (43.45%) content than Ghanaian ones, and lower carbohydrates (33.78%). No significant differences were observed in protein and ash contents between the two origins ($F = 0.78$, $p = 0.470$ and $F = 11.53$, $p = 0.077$, respectively). The values found for

total fat were similar to those obtained by Liendo (1997) when studying differences on cocoa fat composition among several cocoa origins.

Table 1. Chemical composition of unroasted cocoa bean samples.

	Nutrients	Origin	
		ECUADOR	GHANA
Proximates	Moisture (g)	59.5a	51.1b
	Ash (g)	40.3	35.6
	Protein (g)	127.9	128.2
	Carbohydrate by difference (g)	337.8b	365.8a
	Fibre, total dietary (g)	194.7a	113.0b
	Total Fat (g)	434.5a	419.3b
Minerals	Calcium, Ca (mg)	1225.5	1136.1
	Magnesium, Mg (mg)	3075.2	3195.7
	Potassium, K (mg)	12486.2	11996.6
	Phosphorus, P (mg)	4231.4a	3694.8b
	Iron, Fe (mg)	146.4a	67.8b
	Manganese, Mn (mg)	21.6b	39.3a
	Copper, Cu (mg)	26.1	24.5
	Zinc, Zn (mg)	44.6a	37.1b
	Sodium, Na (mg)	261.0a	237.0b
	Selenium, Se (mcg)	2.8a	< 1.0b

Mean values per kg.

Values with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$) according to Tukey's test.

Results from mineral composition of the unroasted cocoa beans, as shown in Table 1, indicated that cocoa beans contains several minerals of great interest for different body functions, such as numerous enzymatic reactions, energy production, transmission of nerve impulses and multiple biologic reactions. (Steinberg, Bearden and Keen, 2003). Significant differences due to the origin effect were found for Phosphorus ($F = 53.46$, $p = 0.002$), Iron ($F = 71.02$, $p = 0.001$), Manganese ($F = 642.32$, $p < 0.0001$), Zinc ($F = 33.16$, $p = 0.005$), Sodium ($F = 15.38$, $p = 0.017$) and Selenium ($F = 1960.03$, $p < 0.0001$) content. Ecuadorian cocoa beans were significantly higher in Phosphorus, Iron, Zinc, Sodium and Selenium than Ghanaian ones, and significantly lower in Manganese. No significant differences were observed in Calcium, Magnesium, Potassium and Copper content between the two origins. These values confirm, as in

other plants, that the mineral content of cocoa reflects the mineral characteristics of the soil in which it has grown (Borchers, Keen, Hannum and Gershwin, 2000).

The chemical composition of chocolate samples is shown in Table 2.

Table 2. Chemical composition of chocolate samples.

Samples characteristics			Proximates (g Kg ⁻¹)					
Geographical origin	Roasting time	Conching time	Moisture	Ash	Protein	Carbohydrates	Fibre	Fat
Ecuador	R1	C1	13.9	15.6	64.0	600.6bcd	17.0	306.0abcd
	R1	C2	14.4	15.7	64.1	599.8cd	16.9	306.2abcd
	R2	C1	14.7	15.6	64.2	598.4d	16.7	307.1abc
	R2	C2	14.3	15.7	64.1	598.6d	16.4	307.3ab
	R3	C1	14.0	15.9	64.1	598.0d	16.1	308.2a
	R3	C2	14.4	15.1	64.3	598.2d	16.2	308.1a
Ghana	R1	C1	14.4	14.5	64.3	605.4ab	16.8	301.5d
	R1	C2	14.1	15.0	64.0	605.6a	16.9	301.5d
	R2	C1	13.9	15.6	63.8	604.4abc	16.9	302.4d
	R2	C2	14.4	15.4	64.1	604.0abc	17.2	302.3d
	R3	C1	14.6	15.5	64.4	602.8abc	17.1	302.9cd
	R3	C2	14.2	15.5	64.1	603.1abc	17.0	303.3bcd

Code of samples: roasting time (R1=30.5 minutes; R2=34.5 minutes and R3=38.5 minutes) and conching time (C1=24 hours and C2=42 hours).

Mean values per kg.

Values with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$) according to Tukey's test.

Unlike the results observed in cocoa beans, in chocolate samples carbohydrates (> 55%) were the principal component and total fat (> 30%) the second one, as could be expected, because in chocolate formulations the added sugar is significantly higher than the amount of additional cocoa butter incorporated. Furthermore, the addition of the other ingredients reduced protein (6-7%), moisture (< 2%), ash (< 2%) and fibre (< 2%) content in chocolates compared with values obtained in cocoa beans. Thus, chocolate consumption does not contribute significantly to protein and dietary fibre intake.

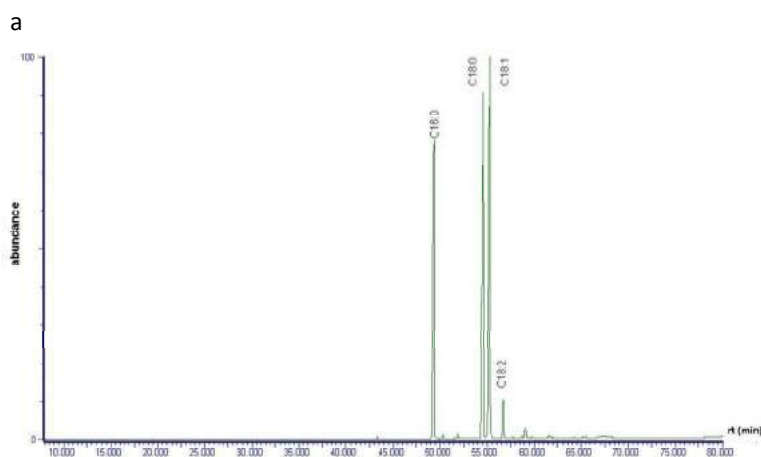
The obtained values in chemical composition of chocolate analyzed samples were in line with the values reported in the USDA Database for dark chocolate with 45-59% of

cocoa solids (USDA, 2010). Carbohydrates were the principal nutrient and their content in chocolates was about 580-600 g kg⁻¹. Total fat and protein content was about 300-320 g kg⁻¹ and less than 70 g kg⁻¹, respectively. Total dietary fibre, ash and water content were less than 20 g kg⁻¹ for all samples.

Considering the composition of chocolate samples in this study (Table 2), only carbohydrates and fat content values varied significantly due to the origin effect ($F = 1179.73$, $p = 0.019$; $F = 996.74$, $p = 0.020$ respectively) and no significant effect was observed for roasting and conching conditions. Ecuadorian samples have higher content in fat than Ghanaian ones and lower content in carbohydrates. No significant differences were observed in moisture, ash, protein and fibre content among samples ($F = 0.11$, $p = 0.986$; $F = 0.84$, $p = 0.70$; $F = 0.16$, $p = 0.966$; $F = 2.01$, $p = 0.504$, respectively).

3.2. Fatty acids profile

Fatty acids from the different cocoa and chocolate samples under study were identified and quantified using GC-MS analyses, showing the separation of fifteen different fatty acid methyl esters, as illustrated in a typical chromatogram in Figure 1.



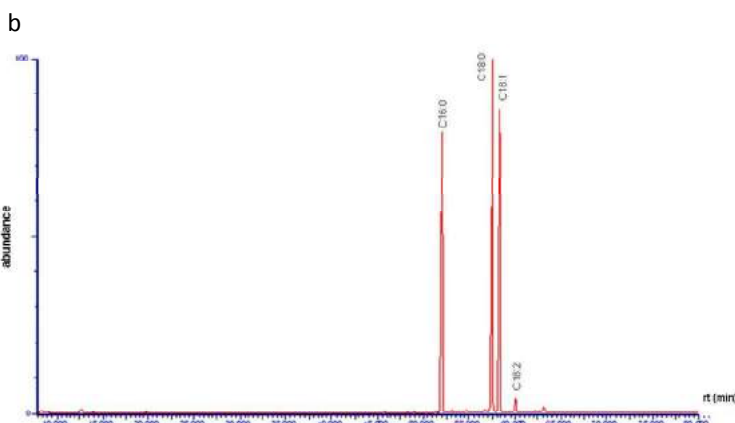


Figure 1. Characteristic GC-MS chromatogram of the fatty acids methyl esters from samples: (a) Ecuadorian and (b) Ghanaian chocolate.

Unroasted cocoa beans

Fatty acids detected in unroasted cocoa beans were: C12:0 (dodecanoic acid), C14:0 (tetradecanoic acid), C15:0 (pentadecanoic acid), C15:1 (pentadecenoic acid), C16:0 (hexadecanoic acid), C16:1 (hexadecenoic acid), C17:0 (heptadecanoic acid), C17:1 (heptadecenoic acid), C18:0 (octadecanoic acid), C18:1 (octadecenoic acid), C18:2 (octadecadienoic acid), C18:3 (octadecatrienoic acid), C20:0 (eicosanoic acid), C20:1 (eicosenoic acid) and C22:0 (docosanoic acid), in order of retention time. For unsaturated fatty acids double bonds position and Z or E geometrical isomers were undifferentiated. Table 3 shows the average contents of the total fatty acids in unroasted cocoa beans from the two origins, Ghana and Ecuador. Quantitatively C16:0 (>25%), C18:0 (>33%) and C18:1 (>34%) were the most important fatty acids for both origins in unroasted cocoa beans. These results were in agreement with the findings obtained by other authors as Liendo (1997), Rezanka (1999) and Lipp (2001) who reported C16:0, C18:0 and C18:1 as the most important fatty acids in cocoa butter.

The effect of geographical origin on the fatty acids profile of the unroasted cocoa beans was studied with a one factor ANOVA. Results obtained shown that the origin only had a significant effect on: C12:0 ($F = 45124.97$, $p < 0.0001$), C14:0 ($F = 51.07$, $p = 0.019$), C16:0 ($F = 52.69$, $p = 0.002$), C17:0 ($F = 25.53$, $p = 0.037$), C18:0 ($F = 68.24$, $p = 0.014$), C16:1 ($F = 50.75$, $p = 0.019$) and C17:1 ($F = 182.99$, $p = 0.005$) fatty acids. These results confirm that the geographical origin had an influence on the fatty acid composition of cocoa butters (Lipp and Anklam, 1998). Ecuadorian cocoa beans had a higher content in: C16:0 (27.30%) and C16:1 (0.31%) than Ghanaian ones and a lower

content in C14:0 (0.06%), C17:0 (0.26%), C18:0 (33.37%) and C17:1 (0.02%). C12:0 was found in trace amounts in Ecuadorian beans (0.015%), while in Ghanaian samples this was not detected.

Despite of the above mentioned differences, the profile of fatty acids was very similar in the two studied cocoa beans from different geographical provenance. For both origins, palmitic acid (C16:0) and stearic acid (C18:0) were the maximum representatives of SFA. The predominant unsaturated fatty acid was oleic acid (C18:1) followed by linoleic acid (C18:2), which was present in a small amount if it is compared with stearic, palmitic or oleic acid contents.

Table 3. Mean content of fatty acids in unroasted cocoa beans and chocolate samples expressed as %.

Samples characteristics		% Fatty acids														
		C12:0	C14:0	C15:0	C15:1	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0
Unroasted	Ecuador	0.015*	0.06*	0.03	0.01	27.30*	0.31*	0.26*	0.02*	33.37*	34.73	2.43	0.13	1.08	0.04	0.15
cocoa beans	Ghana	N.I.	0.09	0.03	0.01	25.02	0.20	0.32	0.03	36.4	34.31	2.02	0.13	1.24	0.04	0.14
Chocolate	Ecuador	0.01	0.09	0.03	0.01	27.98 ⁺	0.25	0.25	0.04	35.25 ⁺	32.76 ⁺	2.20 ⁺	0.10	0.83	0.07	0.10
	Ghana	0.01	0.09	0.03	0.01	27.01	0.20	0.25	0.07	37.60	31.98	1.63	0.15	0.88	0.01	0.16

* Significant difference ($\alpha=0.05$) between cocoa bean samples. ⁺ Significant difference ($\alpha=0.05$) between chocolate samples.

When considering total percentage of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) no differences were found between unroasted cocoa beans (Table 4).

Table 4. Groups and ratio between fatty acids type from the composition of unroasted cocoa bean and chocolate samples.

Groups and ratio of fatty acids						
Samples characteristics		SFA	MUFA	PUFA	UFA	Ratio S/U
Unroasted cocoa beans	Ecuador	62.28	35.12	2.57	37.69	1.65
	Ghana	63.24	34.59	2.15	36.74	1.72
Chocolate	Ecuador	63.95*	33.70*	2.36*	36.06*	1.77*
	Ghana	66.03	32.27	1.78	34.05	1.94

SFA: sum of saturated fatty acids; MUFA: sum of monounsaturated fatty acids; PUFA: sum of polyunsaturated fatty acids; UFA: sum of unsaturated fatty acids; ratio S/U: values of ratio saturated/unsaturated fatty acids.

* Significant difference ($\alpha=0.05$) between chocolate samples.

For both origins, SFA content was the highest, up to 60%, followed by MUFA > 32% and finally, a minority contents of PUFA < 3% were found. The ratio of saturated/unsaturated FA showed the relationship between two major fatty acid groups in cocoa bean fat. Its ratio varied from 1.65 in Ecuadorian beans to 1.72 in Ghanaian beans, which clearly indicates a high proportion of SFA in the fatty acid profile for both origins. Nevertheless, no significant difference was observed when the ratio of saturated/unsaturated fatty acids for the two cocoa bean origin was considered.

Chocolates

Fatty acid profiles of the chocolate samples were similar to those obtained for the unroasted cocoa beans (Table 3), being quantitatively C16:0 (> 26%), C18:0 (> 35%) and C18:1 (> 31%) the most important fatty acids for both origins.

A three factor ANOVA (origin, roasting and conching time) with interactions was performed in order to study if the fatty acid profile of chocolate samples was affected by these factors. Results of the ANOVA, as shown in Table 3, indicated that only the geographical origin had a significant effect in C16:0 ($F = 24.17$, $p < 0.0001$), C18:0 ($F =$

39.71, $p < 0.0001$), C18:1 ($F = 5.878$, $p < 0.0001$) and C18:2 ($F = 35.14$, $p < 0.05$) fatty acids. Ecuadorian samples had significantly higher content of C16:0 (27.98%), C18:1 (32.76%) and C18:2 (2.20%) than Ghanaian samples and lower content in C18:0 (35.25%).

Differences were also found between Ghanaian and Ecuadorian chocolate samples when considering total percentage of SFA ($F = 33.51$, $p < 0.0001$), MUFA ($F = 20.35$, $p = 0.001$) and PUFA ($F = 23.99$, $p < 0.001$) as shown in Table 4. For both origins, SFA content was the highest, being up to 62%, with Ghanaian samples having significantly higher amounts (66.04%) than Ecuadorian samples (63.95%). MUFA were higher by 32%, and mean values were significantly higher for Ecuadorian chocolates (33.70%) than for Ghanaian ones (32.27%). Finally, a minority content of PUFA ($< 3\%$) were found with Ecuadorian samples being significantly richer (2.36%) than Ghanaian ones (1.78%). C16:0 and C18:0 were quantitatively the maximum representatives of SFA, C18:1 the predominant MUFA and C18:2 the most important PUFA. When considering the ratio of saturated/unsaturated FA, significant differences were found between the two origins ($F = 25.86$, $p < 0.05$), 1.77 for Ecuadorian chocolates and 1.94 for Ghanaian ones. Therefore, these results indicate that Ecuadorian chocolate seems to have a healthier FA profile, as Ecuadorian chocolates contain more unsaturated and less saturated fatty acids than Ghanaian ones.

The prevalence of saturated fatty acids over unsaturated fatty acids is considered to be negative from the nutritional point of view. Saturated fatty acids with the chain length of (C12:0-C16:0) have for a long time been thought to contribute to atherosclerosis, and to have been associated with cardiovascular disease (CVD). Thus, because of its high SFA content, chocolate is often postulated to have a hypercholesterolemic effect. However, stearic acid (C18:0), a non-cholesterolemic and atherogenic type of dietary saturated fat, has been suggested to be neutral in recent clinical trials, which have shown that chocolate consumption has neutral effects on serum total cholesterol and LDL-cholesterol, as neither lowers HDL-cholesterol (Kris-Etherton and Mustad, 1994; Bonanone and Grundy, 1988; Thijssen and Mensink, 2005). Wan (2001) demonstrated in his study that after daily consumption of 22 g of cocoa powder and 16 g of dark chocolate for 4 weeks the concentration of HDL cholesterol increased by 4%. Mursu (2004) in another study demonstrated that after daily ingestion of 75 g of dark

chocolate for 3 weeks the concentration of HDL cholesterol increased by 11-14%, and Kurlandsky (2006) demonstrated that in healthy women the dark chocolate intake of 41 g daily in addition to a self-selected diet followed for 6 weeks improved serum triacylglycerol levels.

Furthermore, evidence shows that the effects of stearic acid on lipids can be considered even similar to oleic and linoleic acids which have demonstrated preventive effects on cardiovascular disease (Kris-Etherton, Pearson, Wan, Hargrove, Moriarty, Fishell and Etherton, 1999; Hu, Manson and Willett, 2001; Hopper, Thompson, Harrison, Summerbell, Moore, Worthington, Durrington, Ness, Capps, Davey Smith, Riemersma and Ebrahim, 2005).

Among the MUFA, oleic acid was the major fatty acid in chocolate samples. Oleic acid is considered to be responsible for lowering the LDL-cholesterol levels. Scientific evidence demonstrates that oleic acid present in foods has preventive effects on several chronic diseases (cardiovascular diseases, cancer or age-related cognitive decline) (Trichopoulou, Costacou, Barnia and Trichopoulos, 2003; Martínez-González, Fernández-Jarne, Serrano-Martínez, Martí, Martínez and Martín-Moreno, 2002; Alonso and Martínez-González, 2004; Serra-Majem, Ngo de la Cruz, Ribas and Salleras, 2003/2004; Fitó, de la Torre and Covas, 2007) and therefore, may increase human longevity (Solfrizzi, d'Introno, Colaccio, Capurso, Palasciano, Capurso, Torres, Capurso and Panza, 2005; Huang and Sumpio, 2008).

PUFA, C18:2 and C18:3, although in very little amounts compared with saturated or monounsaturated fatty acids, were found in the samples studied. Much scientific evidence has shown that daily consumption of these two fatty acids have protective effects on cardiovascular health, cancer, diabetes or immune functions (Fraser, Sabaté, Beeson and Strahan, 1992; Jiang, Manson, Stampfer, Willett and Hu, 2002; García-Lorda, Megías Rangil and Salas-Salvado, 2003).

Although evidence in the literature suggests that chocolate consumption may have beneficial effects on health, it must be considered that chocolate has a high total fat and sugar content; in consequence, daily consumption of large amounts of chocolate may increase weight over the long time (Mursu, Voutilainen, Nurmi, Rissanen, Virtanen, Kaikonen, Nyyssö"nen and Salonen, 2004). That is why scientific evidence suggests that chocolate consumption should be considered in the context of a healthy

diet and dark chocolate must be consumed in moderate amounts (20-25 g/daily) (Steinberg, Bearden and Keen, 2003; Mostofsky, Levitan, Wolk and Mittleman, 2010).

4. Conclusions

Cocoa beans and dark chocolate can be considered as products with an important nutritional density, because of their richness in carbohydrates and fats. Differences in fatty acids profile composition between Ecuadorian and Ghanaian samples were mainly explained by the geographical origin effect, both for unroasted cocoa beans and chocolates, but not by the processing conditions (roasting and conching time). C16:0, C18:0, C18:1 and C18:2 were quantitatively the most important fatty acids in all of the studied samples. Ecuadorian chocolates were those with a healthier fatty acid profile and saturated/unsaturated fatty acids ratio, having higher amounts of unsaturated fatty acids and lower amounts of saturated fatty acids. Although, because of its fatty acid profile chocolate can be considered an important source of saturated fatty acids, especially stearic acid, it is important to state that it has been suggested to have a neutral effect on human health. Due to its chemical composition one should take into account that dark chocolate consumption has to be moderate in the context of a healthy diet.

Acknowledgements

To Chocolates Simón Coll S.A. for providing free samples of cocoa and chocolate. CIBERobn is an initiative of the Instituto Carlos III.

References

- Afoakwa, E. (2010). *Chocolate science and technology*. (1st ed.). Oxford: Wiley-Blackwell, (Chapter 10).
- Alonso, A., & Martínez-González, A. (2004). Olive Oil Consumption and Reduced Incidence of Hypertension: The SUN Study. *Lipids*, 39, 9.
- AOAC International (1990b). Fatty Acids in Oils and Fats, Preparation of Methyl Esters. AOAC official method 969.33. *Official Methods of Analysis* (15th ed.) AOAC International: Arlington, VA.
- AOAC International (1995). Cacao beans and its products. AOAC Chapter 31. *Official Methods of Analysis*, (16th ed.) AOAC International: Arlington, VA.
- AOAC International. (1995). Soxhlet fat extraction method. AOAC official method 948.22. *Official Methods of Analysis* (16th ed.) AOAC International: Arlington, VA.
- Beckett, S. T. (2008). *The science of chocolate*. (2nd ed.). Cambridge: RSC Publishing, (Chapter 3).
- Bonanome, A. & Grundy, S.M. (1988). Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *The New England Journal of Medicine*, 318, 1244-1248.
- Borchers, A. T., Keen, C. L., Hannum, S. M., & Gershwin, M. E. (2000). Cocoa and Chocolate: Composition, Bioavailability, and Health Implications. *Journal of Medicinal Food*, 3(2), 77-105.
- Ding, E., Hutfless, S., Ding, X., & Girotra, S. (2006). Chocolate and prevention of cardiovascular disease: A systematic review. *Nutrition and Metabolism*, 3, 2.
- Fitó, M., de la Torre, R. & Covas, M. I. Olive oil and oxidative stress. (2007). *Molecular Nutrition & Food Research*, 51, 1215-1224.

Food and Nutrition Board (FNB), Institute of Medicine (IOM). (2005). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. National Academy Press Washington DC.

Fraser, G. E., Sabaté, J., Beeson, W. L., & Strahan, T. M. (1992). A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. *Archives of internal Medicine*, 152, 1416-1424.

Garcia-Lorda. P., Megias Rangil, I., & Salas-Salvado, J. (2003). Nut consumption, body weight and insulin resistance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(Suppl 1), S8-11.

Grassi, D., Lippi, C., Necozione, S., Desideri, G., & Ferri, C. (2005). Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81, 611-614.

Grassi, D., Desideri, G., & Ferri, C. (2010). Blood pressure and cardiovascular risk: What about cocoa and chocolate? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501, 112-115.

Hooper, L., Thompson, R.L., Harrison, R.A., Summerbell, C.D., Moore, H., Worthington, H.V., ... Ebrahim, S. (2005). Omega 3 fatty acids for prevention and treatment of cardiovascular disease (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 2, Oxford.

Hu, F.B., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Ascherio, A., Colditz, G.A., Speizer, F.E., ... Willett, W.C. (1999). Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Journal of The American Oil Chemists Society*, 70, 1001-1008.

Hu, F.B., Manson, J.E., & Willett, W.C. (2001). Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *Journal of the American College of Nutrition*, 20, 5-19.

Huang, C. L., & Sumpio, B. E. (2008). Olive Oil, the Mediterranean Diet, and Cardiovascular Health. *Journal of the American College of Surgeons*, 207(3), 407-416.

Jiang, R., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2002). Nut and peanut butter consumption and risk of type 2 diabetes in women. *Journal of the American Medical Association*, 288, 2554-2560.

Khampuis, H. J. (2010) . Production an quality standards of cocoa mass, cocoa butter and cocoa powder. In S. T. Beckett (Ed.), *Industrial chocolate manufacture and use*. (pp. 121-141). Oxford: Wiley-Blackwell.

Kris-Etherton, P. M., & Mustad, V. A. (1994). Chocolate feeding studies: a novel approach for evaluating the plasma lipid effects of stearic acid. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60, 1029-1036.

Kris-Etherton, P. M., Pearson, T. A., Wan, Y., Hargrove, R.L., Moriarty, K., Fishell, V., & Etherton, T. D. (1999). High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(6), 1009-1015.

Kurlandsky, S., & Stote, K. (2006). Cardioprotective effects of chocolate and almond consumption in healthy women. *Nutrition Research*, 26(10), 509-516.

Liendo, R., Padilla, F., & Quintana, A. (1997). Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao* L. *Food Research International*, 30 (9), 727-731.

Lipp, M., & Anklam, E. (1998). Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate-Part A. Compositional data. *Food Chemistry*, 62 (1), 73-97.

Lipp, M., Simoneau, C., Ulberth, F., Anklam, E., Crews, C., Brereton, P., ... Wiedmaier, C. (2001). Composition of Genuine Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents. *Journal of food composition and analysis*, 14, 399-408.

López-Huertas, E. (2009). Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*, 61, 200-207.

Martínez-González, M.A., Fernández-Jarne, E., Serrano-Martínez, M., Martí, A., Martínez, J.A., & Martín-Moreno, J.M. (2002) Mediterranean Diet and Reduction in the Risk of a First Acute Myocardial Infarction: An Operational Healthy Dietary Score. *European Journal of Nutrition*, 41, 153-160.

Motofsky, E., Levitan, E. B., Wolk, A., & Mittleman, M. A. (2010). Chocolate intake and incidence of heart failure: a population-based prospective study of middle-aged and elderly women. *Circulation Heart Failure*, 3(5), 612-616.

Mursu, J., Voutilainen, S., Nurmi, T., Rissanen, T.H., Virtanen, J.K., Kaikkonen, J., Nyyssönen, K., & Salonen, J.T. (2004). Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 37:9, 1351-1359.

Nickless, H. (1996). Cocoa butter quality. In: Selamat J, Lian BC, Lai TK, Ishak WRW, Mansor M (eds). Proceeding of the Malaysian international cocoa conference Kuala Lumpur. pp. 322-336.

Rezanka, T., & Rezankova, H. (1999). Characterization of fatty acids and triacylglycerols in vegetable oils by gas chromatography and statistical analysis. *Analytica Chimica Acta*, 398, 253-261.

Rusconi, M. & Conti, A. (2010). *Theobroma cacao* L.. the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research*, 61, 5-13.

Segall, S., Artz, W., Raslan, D., Ferraz, V., & Takahashi, J. (2005). Analysis of triacylglycerol isomers in Malaysian cocoa butter using HPLC-mass spectrometry. *Food Research International*, 38, 167-174.

Serra-Majem, L., Ngo de la Cruz, J., Ribas, L., & Salleras, L. (2003/2004). Mediterranean Diet and Health: Is all the Secret in Olive Oil? *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, 33, 461-465.

Simoneau, C., Hannaert, P., & Anklam, E. (1999). Detection and quantification of cocoa butter equivalents in chocolate model systems: analysis of triglyceride profiles by high resolution GC. *Food Chemistry*, 65, 111-116.

Solfrizzi, V., D'Introno, A., Colaccio, A., Capurso, C., Palasciano, R., Capurso, S., ... Panza, F. (2005). Unsaturated fatty acids intake and all-causes mortality: a 8.5 year follow-up of the Italian Longitudinal Study of Aging. *Experimental Gerontology*, 40, 335-343.

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

Thijssen, M., & Mensink, R. (2005). Small differences in the effects of stearic acid, oleic acid, and linoleic acid on the serum lipoprotein profile in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82, 510-516.

Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Costell, E. & Blanch, C. (2011). Dark chocolate acceptability: Influence of cocoa origin and processing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, DOI 10.1002/jsfa.4592.

Trichopoulou, A., Costacou, T., Barnia, C., & Trichopoulos, D. (2003) Adherence to a Mediterranean Diet and Survival in a Greek Population. *The New England Journal of Medicine*, 348, 2599-2608.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference. (2010). Retrieved from: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl

Wan, Y., Vinson, J. A., Etherton, T. D., Proch, J., Lazarus, S. A., & Kris-Etherton, P. M. (2001). Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 596-602.

CAPÍTULO 2.

DARK CHOCOLATE: INFLUENCE OF COCOA ORIGIN AND ROASTING TIME ON VOLATILE COMPOSITION DETERMINED BY HS-SPME/GC-MS

M. Torres-Moreno*¹, A. Tarrega², J. Salas-Salvadó³ and C. Blanch¹

¹ Food Science Research Group. Universitat de Vic. Sagrada Família 7, 08500 Vic,
Barcelona (Spain).

² Laboratory of Physical and Sensory Properties. Instituto de Agroquímica y Tecnología
de los Alimentos, Avda. Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia (Spain).

³ Human Nutrition Unit, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, IISPV, Universitat
Rovira i Virgili, Reus (Spain) and CIBERobn Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición,
Instituto de Salud Carlos III, Madrid (Spain).

Journal of Food Engineering, en revision.

RESUMEN

El secreto de la gran popularidad del aroma y del sabor del chocolate es debido fundamentalmente a su fracción volátil, siendo el sabor del chocolate uno de los factores más importantes a tener en cuenta en la evaluación de la calidad del mismo. El aroma y el sabor del chocolate, se relacionan entre otros, con parámetros como el genotipo del cacao, las condiciones ambientales de donde crecen los árboles del cacao o las condiciones del procesado, entre las cuales el tostado, puede afectar y contribuir en mayor grado sobre el sabor final del producto.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de distintos tiempos de tostado (30.5, 34.5 y 38.5 min) sobre la composición de compuestos volátiles en el chocolate negro elaborado con cacao de distinto origen geográfico (Ecuador y Ghana). Para la separación e identificación de los componentes volátiles de las muestras se utilizó la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS), aplicando la técnica de micro-extracción en fase sólida en el espacio de cabeza (HS-SPME) como método de extracción de los compuestos volátiles de la muestra.

Para la extracción SPME se utilizó una fibra de carboxeno-polidimetilsiloxano (CAR-PDMS) que fue la que permitió extraer un mayor número de compuestos volátiles. Se identificaron un total de 121 compuestos distintos, pertenecientes a las siguientes familias químicas: ácidos, alcoholes, aldehídos, alkanos, ésteres, furanos, cetonas y compuestos nitrogenados, tales como derivados de piranos, pirazinas, pirroles y tiazoles.

El efecto del tiempo de tostado de los granos de cacao sobre la composición de compuestos volátiles de los chocolates dependió del origen geográfico de procedencia del cacao.

Se utilizó el análisis de componentes principales (PCA) para estudiar los compuestos volátiles presentes, obteniéndose 6 grupos de compuestos de acuerdo a la posición de los mismos en el gráfico de componentes principales en base a su variación entre

muestras. De esta manera, se identificaron los compuestos que aparecían o desaparecían durante el tostado para cada uno de los orígenes geográficos estudiados.

Podemos concluir por tanto que, los compuestos volátiles identificados en las muestras, así como su variación, dependen especialmente del origen geográfico de los granos de cacao. Como muestran los resultados, el análisis de componentes principales permite, no sólo caracterizar las diferencias de compuestos entre las muestras, sino también clasificar los compuestos de forma sistemática según su variación entre muestras, de acuerdo a los factores considerados: tiempo de tostado y origen geográfico del cacao.

ABSTRACT

In this study the volatile composition of six samples of dark chocolates varying in the cocoa roasting time (30.5, 34.5 and 38.5 min) and geographical origin (Ecuador and Ghana) was determined by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) combined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). One hundred and twenty-one different compounds were identified using a carboxen/polydimethylsiloxane (CAR-PDMS) fiber. Volatile compounds identified were grouped by functional chemical group as: acids, alcohols, aldehydes, alkanes, esters, furans, ketones, nitrogen compounds, pyran derivatives, pyrazines, pyrroles and thiazoles. The effect of roasting time on the volatile composition of dark chocolates depended on their geographical origin. Principal component analysis (PCA) was applied to volatile composition of the six dark chocolate samples. Six different groups of compounds were established according to the position of the aroma compounds on the PC plot and accordingly to variation among samples. Therefore, volatile compounds that appeared or disappeared during roasting of cocoa from each origin or both origins were identified.

Keywords: dark chocolate, cocoa origin, roasting time, HS-SPME/GC-MS, volatile compounds.

INTRODUCTION

Chocolate is one of the most appealing foods world-wide due to its organoleptic properties, and has traditionally been consumed mainly for its taste and aroma. The secret of the great popularity of chocolate flavour resides mainly in its volatile aromatic fraction.¹ The flavour of chocolate is related to cocoa bean genotype, each variety having unique potential flavour traits.² Also cocoa bean growing conditions (climate, the amount and timing of sunshine, soil conditions, ripening or harvesting) and manufacturing process (fermentation, drying, roasting and conching conditions) can affect and contribute to the final flavour of chocolate.^{3,4}

During fermentation, ethanolic, acetic and lactic acids are produced with the consequent acidification of beans. This fermentation lasts for 1-3 days for Criollo beans and for 5-6 days for Forastero beans.⁵ During this stage, there is a significant increase in volatile compounds (alcohols, organic acids and aldehydes) and also some aroma precursors (free amino acids, short-chain peptides and reducing sugars) are developed. Unfermented cocoa beans do not deliver the characteristic cocoa aroma when roasted, while off-flavours are generated in over fermented cocoa beans.⁶ Additionally, it is of primary importance that beans must have reached maturity; otherwise, no other processing steps can produce the desired flavours. Beans are dried after fermentation, which is also an important step in the process for flavour precursors to develop. The Maillard reaction takes place and the first intermediates of the reaction (Amadori compounds of free amino acids and glucose reaction) are generated.⁷ Indicators of well-dried beans are: good brown colour, low astringency and bitterness, absence of off-flavours such as smoky notes and excessively acidity, which is commonly determined by cut test as reported by Afoakwa (2008)⁵ a method for checking the sanitary and fermentation quality of cocoa.

Roasting is the most important technological operation during chocolate processing and is responsible for the formation of the characteristic chocolate flavour. Aldehydes and pyrazines are the major compounds formed through the Maillard reaction and Strecker degradation of amino acids and sugars.^{7,8} The roasting process not only generates new volatile compounds but also involves the loss of compounds that affect the final flavour, such as acetic, citric and succinic acids, however, the less volatile acids, such as oxalic and lactic, remain largely unchanged by the roasting process.^{9,10}

Cocoa beans are roasted at temperatures between 90-150°C and the extent of the chemical changes depends mainly on the type of roasting (dry or moist), on the temperature and time applied during the process.¹¹

Conching is the next stage in the chocolate manufacturing process that plays a role to the development of viscosity, the final texture and flavour. Flavour development during conching depends on the interaction between time and temperature. During this step no new key odorants are formed; however, some compounds increase significantly and others are lost by evaporation especially off-flavours,^{12,13} thus the final flavour of the chocolate may be improved.

Therefore, the characteristic aroma of cocoa and chocolate products is due to a complex mixture of several different compounds and each of them has its own chemical properties and makes its particular contribution to the whole aroma. To fully understand the variations in chocolate flavour some authors have investigated the volatile composition in dark chocolate, cocoa beans or cocoa powder,¹⁴⁻¹⁶ but little evidence has shown complete information for explaining the volatile composition of dark chocolates considering the differences based on cocoa beans geographical origin and processing conditions.¹

The aim of the study was to characterize the effect of cocoa geographical origin and roasting time on volatile flavour compounds of dark chocolates by gas chromatography-masses spectrometry (GC-MS) previous to headspace-solid phase microextraction (HS-SPME).

MATERIALS AND METHODS

Preparation of samples

Two groups of three dark chocolate samples with different geographical origin cocoa beans (Ecuador and Ghana), varying in roasting conditions (three roasting times: R1=30.5, R2=34.5 and R3=38.5 min) and conched during 24 hours were used in this study. Chocolates containing 51% (w/w) of cocoa were prepared in a chocolate factory (Chocolates Simón Coll, S.A., Barcelona, Spain) following a traditional chocolate manufacturing process as described in a previous study.¹⁷ Whole cocoa beans were roasted in a ball roaster at 130°C. After roasting, beans were submitted to winnowing

and the cocoa nibs obtained were milled. The cocoa mass obtained was mixed with sucrose and then refined using a five-roll refiner to reduce particle size. The refined mixture was conched at 50-52°C in a longitudinal conche. To improve viscosity and liquefaction, lecithin (0.01%) and cocoa butter (4%) were added. Finally, chocolate samples were molded and kept at 12-21°C and 70% relative humidity.

Determination of volatile compounds by HS-SPME/GC-MS analysis

Static headspace extraction of volatile compounds was performed using solid phase microextraction (SPME) in a static headspace sampler (SHS 5068, Teknokroma 2t®) using two fibers: 65 µm polydimethylsiloxane-divinilbenzene coating (PDMS-DVB) and 75 µm carboxen/polydimethylsiloxane coating (CAR-PDMS), provided by Supelco (Bellafonte, PA, USA). The extraction conditions were studied combining different exposure time and temperatures of the fibers. The final conditions selected were: 30 minutes at 55°C for headspace equilibration (2 g chocolate) and 40 min at 55°C with fiber exposition. Extractions were carried out in 10 mL PTFE/Silicone septa vials (Supelco, Bellafonte, PA, USA). After absorption, the volatiles extracted by the fibers were thermally desorbed for 5 minutes into the splitless injector (230°C) of a GC8000 Thermo Quest gas chromatograph coupled to a Voyager MD800 Finnigam Mass Spectrometer Detector and separated on a fused-silica TRB-WAX polyethyleneglycol capillary column (60 m x 0.25 mm I.D., 0.2 µm film thickness; Teknokroma, Barcelona, Spain). The GC was setup with a constant flow of 1.2 mL/min (helium), the oven temperature programme was: 60°C (5 min); 3°Cmin⁻¹ to 200°C; 200°C (6 min); 4°Cmin⁻¹ to 250°C and finally 7 min at 250°C. Detection was carried out in a MD800 mass-selective single quadrupole, using electron-impact ionization (70eV), detector at 550V, source temperature at 200°C, a scan range of 50-450 amu.

Two replicates were injected for each sample and component identification was based on comparison of its mass spectra with those of the US National Institute of Standards and Technology (NIST) database-98 library of mass spectra considering peak base, molecular masses, characteristic mass loses and by comparing retention index with literature data.

Data analysis

ANOVA of two factors with interactions was used to study the effect of cocoa origin and roasting time on flavour compounds. Significance of differences among means was established using Tukey's Test ($\alpha \leq 0.05$). Principal component analysis was used to evaluate relationships among selected flavour volatiles obtained by GC-MS data and influential factors. All the analysis were carried out with XLSTAT Pro software version 2011 (Addinsoft, France).

RESULTS AND DISCUSSION

Identification of volatile compounds

The first question considered was the choice of SPME fiber coating. The results showed that when using CAR-PDMS up to one hundred peaks were detected whereas with PDMS-DVB the number of peaks in the chromatogram was quite low (< 75). Thus, the former fiber was selected as optimum for the extraction of volatile compounds.

Volatile compounds of the different chocolate samples under study were extracted by HS-SPME and identified by GC-MS analyses. The key volatiles were selected according to their presence in chromatogram peak areas at > 105 abundant units quantified by GC-MS. One hundred and twenty-one compounds were identified in the studied samples as illustrated in the typical chromatogram in Figure 1.

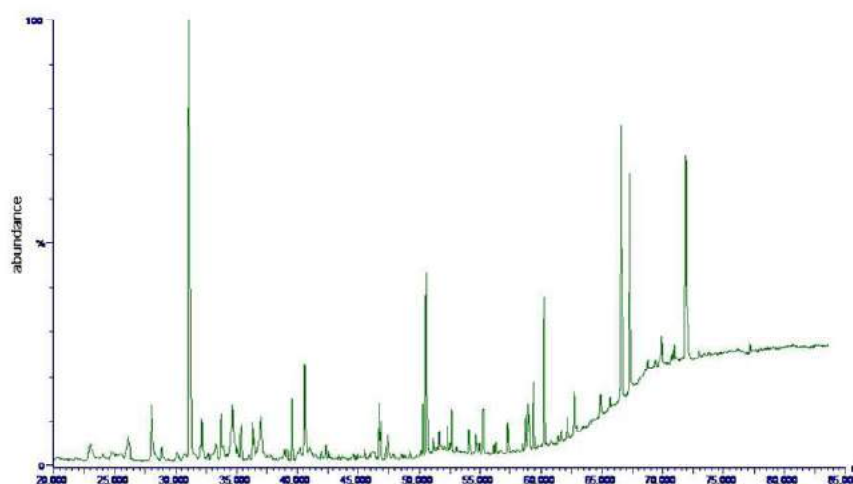


Figure 1. GC-MS chromatogram of the volatile compounds from a dark chocolate sample.

Table 1. Two-way analysis of variance (origin and roasting time) with interactions for volatile compounds identified in dark chocolates samples.

Família	Compound	ID	F origin	F roasting	F interaction	Group
Acids	Acetic acid	A1	164,70 **	202,46 **	3,50 ns	G6
	Propanoic acid	A2	13,47 *	124,75 **	19,02 *	G1
	2-methyl propanoic acid	A3	0,48 ns	45,70 **	26,02 *	G1
	Butanoic acid	A4	339,14 **	339,14 **	339,14 **	G1
	Pentanoic acid	A5	28,53 *	218,28 **	83,27 **	G6
	4-Methyl pentanoic acid	A6	200,71 **	97,61 **	211,09 **	G3
	Hexanoic acid	A7	16,68 *	40,56 **	13,01 *	G6
	Hexanedioic acid	A8	92,84 **	92,84 **	92,84 **	G6
	Nonanoic acid	A9	161,95 **	478,96 **	161,95 **	G6
	Undecanoic acid	A10	1,43 ns	1,43 ns	1,43 ns	
	Benzoic acid	A11	157246,65 **	157246,65 **	157246,65 **	G1
	Benzeneacetic acid	A12	12,32 *	12,32 *	12,32 *	G1
Alcohols	1-Pentanol	OH1	106366,30 **	106366,30 **	106366,30 **	
	4-Heptanol	OH2	3695,79 **	3695,79 **	3695,79 **	
	1-Octanol	OH3	490,41 **	148,17 **	148,17 **	G6
	2-Nonanol	OH4	0,79 ns	146,13 **	0,79 ns	G1
	2-Hexadecanol	OH5	58,75 **	58,75 **	58,75 **	
	2,3-Butanediol	OH6	359,54 **	220,06 **	220,06 **	G3
	2,6-Dimethyl-7-octen-2-ol	OH7	25,61 *	25,61 *	25,61 *	G1
	3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol (linalool)	OH8	64,07 **	26,13 *	54,38 **	G5
	2E-undecen-1-ol	OH9	17,92 *	17,92 *	17,92 *	G1
	Phenol	OH10	78,45 **	78,45 **	78,45 **	G3
	2,4-bis(1,1-dimethylethyl) phenol	OH11	17704,16 **	17704,16 **	17704,16 **	G1
	2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-(1-methylpropyl) phenol	OH12	2,31 ns	0,58 ns	1,85 ns	
	2-(1,1-dimethylethyl)-4-(1-methyl-1-phenylethyl) phenol	OH13	1740,75 **	2020,67 **	1740,75 **	G1
	Benzyl alcohol	OH14	3,20 ns	17,32 *	27,62 **	
	2-Phenylethanol (Phenylethyl alcohol)	OH15	78,57 **	0,08 ns	8,64 *	G4
Aldehydes	Nonanal	AD1	197,18 **	3,63 ns	3,63 ns	G4
	Dodecanal	AD2	417,15 **	106,31 **	106,31 **	G4
	2-Dodecenal	AD3	9324,88 **	2384,88 **	2384,88 **	G4
	10-Octadecenal	AD4	5199,77 **	5199,77 **	5199,77 **	G1
	Benzaldehyde	AD5	31,96 *	30,12 **	20,73 *	G3
	2-Phenyl-2-butenal	AD6	45,85 **	40,01 **	54,92 **	G5
	4-Methyl-2-phenyl-2-pentenal	AD7	32,85 *	32,85 **	32,85 **	G1
	2-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	AD8	463,30 **	128,66 **	128,66 **	G4
	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	AD9	345,10 **	17,08 *	57,49 **	G4
	Benzeneacetaldehyde	AD10	9,57 *	9,57 *	9,57 *	G1
	4-Hydroxy-3-metoxibenzaldehyde (Vanillin)	AD11	53,70 **	6,27 *	32,45 **	G4
Alkanes	Nonadecane	AK1	74,24 **	74,24 **	74,24 **	
	2,3,5-Trimethyl decane	AK2	1256,61 **	1256,61 **	1256,61 **	
	6-ethyl-2-methyldecane	AK3	24,29 *	24,29 *	24,29 *	
	3-methylpentadecane	AK4	15,14 *	15,14 *	15,14 *	
	Eicosane	AK5	363,92 **	363,92 **	363,92 **	
Esters	Methyl acetate	E1	14,88 *	14,88 *	14,88 *	G1
	Ethyl acetate	E2	3968,86 **	3968,86 **	3968,86 **	G1
	Methyl benzeneacetate	E3	10869,96 **	10869,96 **	10869,96 **	
	Ethyl benzeneacetate	E4	16,77 *	19,51 *	14,20 *	G5
	2-phenylethyl acetate	E5	9,94 *	3,42 ns	2,81 ns	G5
	1-methylethyl propanoate	E6	338,17 **	338,17 **	338,17 **	G3
	1-methylpropyl propanoate	E7	7687,16 **	7687,16 **	7687,16 **	
	Ethyl octanoate	E8	150,73 **	14,66 *	6,77 *	G5
	Ethyl decanoate	E9	105,79 **	4,61 ns	7,48 *	G4
	Ethyl dodecanoate	E10	124,55 **	11,32 *	19,54 *	G5
	Methyl hexadecanoate	E11	3,74 ns	80,79 **	3,74 ns	G1
	Ethyl hexadecanoate	E12	90,60 **	90,60 **	90,60 **	G1
	Methyl 7-octadecanoate	E13	1,50 ns	1,50 ns	1,50 ns	
	Methyl 9-octadecanoate	E14	6975,44 **	6975,44 **	6975,44 **	
	Methyl 11-octadecanoate	E15	38,33 **	38,33 **	38,33 **	G6

Família	Compound	ID	F origin	F roasting	F interaction	
Furans	2-Furanmethanol	F1	101,71 **	41,26 **	41,26 **	G3
	5-methyl-2-furanmethanol	F2	14,79 *	14,79 *	14,79 *	G3
	2(5H)-Furanone	F3	124,18 **	128,63 **	57,53 **	G2
	Dihydrofuran-2(3H)-one (Butyrolactone)	F4	53,96 **	162,95 **	11,46 *	G2
	Dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone	F5	7,69 *	7,69 *	7,69 *	G3
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	F6	232,76 **	7,33 *	7,33 *	G4
	Dihydro-3-hydroxy,4,4-dimethyl-2(3H)-furanone (Pantolactone)	F7	12,88 *	2,00 ns	12,65 *	G4
	5-Acetyldihydro-2(3H)-furanone	F8	495,39 **	445,78 **	0,80 ns	G2
	2-Furyl methyl ketone	F9	95,25 **	95,25 **	95,25 **	G3
	2-Furancarboxaldehyde (Furfural)	F10	21,32 *	34,12 **	33,07 **	G3
	2,5-Furandicarboxaldehyde	F11	42,06 **	42,06 **	42,06 **	G2
	5-Methyl-2-furancarboxaldehyde	F12	30,49 *	2,87 ns	110,22 **	G6
	5-Hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde	F13	10,65 *	36,76 **	5,52 *	G2
Ketones	1-Hydroxy-2-propanone	K1	492,64 **	236,25 **	316,78 **	G4
	3-Hydroxy-2-butanone	K2	8,80 *	0,18 ns	0,18 ns	G4
	4-Hydroxy-2-butanone	K3	7,21 *	7,21 *	7,21 *	G1
	4-Methyl-4-penten-2-one	K4	9,03 *	9,03 *	9,03 *	
	5-Phenyl-2-pentanone	K5	1,00 ns	1,00 ns	1,00 ns	
	2-Methyl-3-octanone	K6	113,83 **	277,33 **	113,83 **	G1
	5-Undecanone	K7	2343,57 **	2343,57 **	2343,57 **	
	Acetophenone	K8	18,45 *	1,67 ns	2,64 ns	G4
	2,3-Octanedione	K9	214,99 **	66,68 **	66,68 **	G4
	6,7-Dodecanedione	K10	122,34 **	33,78 **	119,71 **	G5
N-Compounds-Amides	Acetamide	N7	4886,04 **	4886,04 **	4886,04 **	
N-Compounds-Amines	Trimethylamine	N1	63,39 **	63,39 **	63,39 **	G6
	(E)-1,4-Cyclohexanediamine	N2	145,93 **	145,93 **	145,93 **	
	N,N-Dimethyl-1-hexadecamine	N3	553,83 **	553,83 **	553,83 **	G6
N-Compounds-Others	Phenylmethylhydrazine	N4	51,98 **	21,44 *	21,44 *	
	3-Phenylmethylpyridine	N5	279,23 **	279,23 **	279,23 **	G1
	3,7-Dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6-dione (Caffeine)	N6	914,43 **	914,43 **	914,43 **	
Pyran derivatives-Pyranones	4H-Pyran-4-one	P1	622,98 **	622,98 **	622,98 **	
	1H-2-Benzopyran-1-one (Isocoumarin)	P2	1,74 ns	3,17 ns	6,02 *	G1
	5,6-Dihydro-6-pentyl-2H-pyran-2-one	P3	2,69 ns	76,16 **	2,69 ns	G1
	3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one (Maltol)	P4	297,71 **	297,71 **	297,71 **	G1
	6-Ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl-2H-pyran-3-ol	P5	33,71 *	45,77 **	87,64 **	
	2H-Pyran-3-ol,6-ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl	P6	11816,65 **	11816,65 **	11816,65 **	G6
Pyrazines	Methylpyrazine	PZ1	119,20 **	290,58 **	48,34 **	G2
	2,5-Dimethylpyrazine	PZ2	3,21 ns	30,10 **	1,16 ns	G2
	2,6-Dimethylpyrazine	PZ3	264,42 **	152,87 **	15,08 *	G2
	2,3,5-Trimethylpyrazine	PZ4	9,35 *	30,91 **	2,54 ns	G2
	Tetramethylpyrazine	PZ5	0,20 ns	6,62 *	3,45 ns	G2
	2-Ethylpyrazine	PZ6	1,11 ns	1,11 ns	1,11 ns	
	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazine	PZ7	8,12 *	53,39 **	8,12 *	G2
	2,5-Dimethyl-3-ethylpyrazine	PZ8	5,40 ns	83,06 **	9,99 *	G2
	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	PZ9	439,75 **	439,75 **	439,75 **	G4
	2,6-Diethylpyrazine	PZ10	11819419,88 **	11819419,88 **	11819419,88 **	G3
	3,5-Diethyl-2-methylpyrazine	PZ11	5,88 ns	104,02 **	5,88 *	G2
	2-Acetyl-3-methylpyrazine	PZ12	656,89 **	656,89 **	656,89 **	G4
Pyrroles	2-Acetylpyrrole	PY1	28,62 *	26,98 *	7,71 *	G4
	1-H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	PY2	0,02 ns	3,71 ns	12,65 *	
	1-Methyl-1-H-pyrrole-2-carboxaldehyde	PY3	118,09 **	118,09 **	118,09 **	G3
	2-Pyrrolidinone	PY4	127,22 **	32,05 **	0,38 ns	G2
	1-Methyl-2-pyrrolidinone	PY5	12,16 *	7,78 *	7,78 *	G4
	1-Pyrrolidinecarboxaldehyde	PY6	295908,66 **	295908,66 **	295908,66 **	G3
Thiazoles	2-(4-Methyl-1,3-thiazol-5-yl)ethanol	T1	303,57 **	303,57 **	303,57 **	G1

* Significant difference (p<0.05). ** Significant difference (p<0.001). Compounds write in italics are those which had not been previously described in bibliography.

Volatiles are shown by functional chemical group order in Table 1, comprising acids, alcohols, aldehydes, alkanes, esters, furans, ketones, nitrogen compounds, pyran derivatives, pyrazines, pyrroles and thiazoles.

Some of these compounds have been reported previously and indicated as responsible for the note flavours and off flavours during fermentation, drying of cocoa beans, or during roasting and conching of chocolates, as summarized in Table 2.^{12,14-16,18-25}

Table 2. Volatile compounds identified and odour description in cocoa beans and chocolates.

Familie	Compounds	Authors	Odour description	ID	
Acids	Acetic acid	a,b,g,h,k,l	Astringent, vinegar, sour, strong,pungent	A1	
	Dimethylpropanedioic acid	b			
	3-Methylbutanoic acid	b,g,k,l	Rancid, cheesy, faecal, hammy,sweet,acid		
	2-Methylbutanoic acid	b,g,l	Cheesy, sweaty, hammy,rancid		
	2-Methylhexanoic acid	e			
	Propanoic acid	g,h,k,l	Pungent, rancid, soy	A2	
	Methylpropanoic acid	g	Rancid		
	Butanoic acid	g,h,k	Rancid, cheese, sweat	A4	
	Phenylacetic acid (benzeneacetic acid)	g,k,l	Sweet, floral, honey	A12	
	Benzoic acid	l	Urinelike, faint balsamic	A11	
	2-Methylpropanoic acid	k	Rancid, butter, cheese, hammy,sour,sickening,pungent	A3	
	Hexanoic acid	k,l	Sweat, pungent, sickening, rancid, sour	A7	
	Octanoic acid	k,l	Sweat, cheese, oily, fatty		
	Nonanoic acid	k	Green, fat	A9	
	Dodecanoic acid	k	Metal		
	2-Methylpropanoic acid	l	Rancid butter, hammy		
	Butyric acid (=233)	l	Sharp, cheesy, rancid		
	Pentanoic acid	l	Putrid, faecal, sweaty, rancid	A5	
	Heptanoic acid	l	Rancid, sour, sweaty		
	3-Phenylpropanoic	l	Sweet, rose		
	3-Phenylpropenoic	l	Honey, floral		
	Alcohols	1-Pentanol	a,d,h,i,l	Pungent, ripe fruit	OH1
		2,4-Hexadien-1-ol	d		
3-Methylpentanol		a			
2-Heptanol		a,d,g,h,j,l	Earthy, oily,citrusv		
Benzyl alcohol (phenylmethanol)		a,b,d,h,k	Sweet, flower	OH14	
3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol (linalool)		a,d,e,g,j,l	Flowery, floral, fruity (low)	OH8	
2-Phenylethanol		a,b,d,g,h,k,l	Caramel-like, sweet, honey,spice,rose,lilac,flowery,fragrant	OH15	
2,3-Butanediol		b,h,k		OH6	
4-Tert-butylphenol (Terbutol)		f			
4-Methylphenol (p-cresol)		a,d,g	Faecal		
2-Methoxy-4(2)-propenylphenol (cis-isoegenol)		g	Smoky		
2-methoxyphenol (guaiacol)		d,g,i	Smoked, sweet (low intensity)		
Methanol		h			
Ethanol		h			
1-Propanol		h,k,l	Pungent, sweet candy,alcohol		
1-Butanol		h			
2-Butanol		h,l	Medicinal		
1-octanol		h,l	Sharp, fatty, waxy, citrus	OH3	
2-nonanol		h		OH4	
Decanol		h			
3-methyl-1-butanol		g,h,k,l	Malty, bitter, chocolate		
2-Pentanol		h,k,l	Green, mild green		
1-Hexanol		h,l	Fruity, green, herbaceous		
Oct-1-en-3-ol		h			
2-methyl-1-propanol		k,l	Winelike		
3-methyl-2-butanol		k			
1,3-Butanediol		k			
Pentyl alcohol		l	Mild green		
2-Hexanol		l	Fruity, green, herbaceous		
5-Ethenyltetrahydro-R,R,5-trimethyl-cis-2-furanmethanol		b,d,l	Fruity, floral/flowery (low),sweet,nutty		
1-Heptanol		l	Wizeded		
5-Ethenyltetrahydro-R,R,5-trimethyl-trans-2-furanmethanol		l	Floral, citrus, lemon, refreshing		
Furfuryl alcohol		d,l	Cooked-sugar		
1-Phenylethanol	l	Rose, honey, fragant, floral			
Geraniol	l	Floral, sweet, rose, fruity			
Catechol monomethyl ether	l	Smooky, medicinal, woody, burnt			
Alcohols-Phenols	Phenol	a,d,i		OH10	
	4-methylphenol	a,l	Medicinal, heavy		
	2-Methylphenol	l	Musty, phenolic-odor		
	3-Methylphenol	l	Medicinal, woody		

Famílie	Compounds	Authors	Odour description	ID	
Aldehydes	2-Methylpropanal (isobutanal)	a,b,d,g,i,k	Chocolate,malty		
	2-Methylbutanal	a,b,d,g,i	Chocolate,malty		
	3-Methylbutanal	a,b,d,g,h,i,j,k,l	Chocolate,malty		
	2-Methyl-2-butenal	a,d			
	3-(Methylthio)propanal	a,d	Potato		
	Heptanal	a,d,e,h,i			
	Benzaldehyde	a,b,d,e,h,j,l	Nutty,bitter	AD5	
	Benzenecetaldehyde (phenylacetaldehyde)	a,b,d,g,h,i,j,k,l	Flowery, sweet, honey,berry,nutty	AD10	
	Nonanal	a,d,e,i		AD1	
	2-Phenyl-2-butenal	a,d	Cocoa, sweet, roasted, rum		
	5-methyl-2-phenyl-2-hexenal	a,d,j,l	Roasted,cocoa	AD9	
	Pentanal	b,e,k	Almond, malt, pungent		
	Hexanal	b,e,h			
	3,5-Dimethylbenzaldehyde	b			
	Octanal	e			
	2,4-heptadienal	e			
	Decanal	e			
	4-phenylbutanal	e			
	(E,E)-2,4-nonadienal	g,i	Fatty, oily		
	2-6-nonadienal	i			
	2,4-decadienal	i			
	2-nonenal	i			
	Acetaldehyde (etanal)	h,l			
	2-Phenyl-2-butenal (a-Ethyliden-benzenecetaldehyde)	j		AD6	
	2-butenal	e			
	2-Hydroxybenzaldehyde	l	Pungent, phenolic-odor, spicy, almond		
	2-Phenylpropanal	l	Floral		
	4-Methyl-2-phenyl-2-pentenal	l	Cocoa	AD7	
	4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vainillin)	a,d,l	Chocolate, sweet, vainilla	AD11	
	3,5-Dimethyloctane	b			
	2,3,5-trimethyldecane	e		AK2	
	Alkanes				
Esters	Ethyl benzoate	a,d			
	Ethyl benzoate	a,d,l	Fatty, floral, fruity		
	Ethyl octanoate (Ethyl caprylate)	a,d,h,l	Fruity, floral, pineapple	E8	
	2-Phenylethyl acetate	a,d,g,h,j,k	Rose, honey, tobacco, flowery,sweet	E5	
	Ethyl 3-phenylprop-2-enoate (ethyl cinnamate)	a,l	Fruity, floral (low),honey		
	Methyl acetate	b,k		E1	
	3-methyl-1-butyl acetate	e,k			
	Propionic acid citronellol ester	e			
	Octyl butanoate	e			
	Ethyl decanoate	h			
	Ethyl dodecanoate	e,k,l	Leaf, fruity, floral	E10	
	Isopentyl benzoate	b,e			
	Ethyl 2-methylpropanoate	g	Fruity		
	Ethyl 2-methylbutanoate	g	Fruity		
	Ethyl acetate	h,k	Pineapple	E2	
	Butyl acetate	h,k	Fruit, apple, banana		
	Ethyl butanoate	h			
	Propyl acetate	h			
	4-Ethylphenyl acetate	j			
	Ethyl 3-methylbutanoate	g	Fruity		
	3-methyl-2-butyl acetate	k			
	2-phenyl acetate	k			
	Ethyl lactate	k	Fruit		
	Ethyl phenyl acetate	k,l	Fruit, sweet, honey		
	Ethyl palmitate	k,l	Waxy, mild green		
	Ethyl valerate	l	Fruity, apple		
	Ethyl hexanoate	l	Fruity, apple, banan, winelike, brandy		
	Ethyl heptanoate	l	Winelike, brandy		
	Furfuryl propionate	l	Spicy, floral		
	Ethyl decanoate	l	Pear, grape, brandy		
	Benzyl acetate	l	Floral, jasmine		
	Geranyl acetate	l	Rose, lavender, sweet		
	Methyl phenylacetate	l	Sweet, honey, jasmine		
Isoamyl benzoate	l	Balsam, sweet			
Methyl tetradecanoate	l	Fatty			
Methyl (E)-3-Phenylprop-2-enoate (methyl cinnamate)	l	Balsamic, strawberry			
Ethyl tetradecanoate	l	Waxy, soapy			
Methyl palm itate	l				
Methyl stearate	l	Oily			
Ethyl stearate	l	Waxy			
Ethyl cis -9-octadecenoate	l				

Famílie	Compounds	Authors	Odour description	ID
Ethers	3-2(phenylmethoxy)phenyl	e		
	Methoxymethylcyclooctariene	e		
Furans	2-Furamethanol	a,b,d		F1
	3,5-Dimethyl dihydro furan-2-one	b		
	1(2-furyl)butanone	e		
	Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanone	a,d,l		
	Furancarboxaldehyde (furfural o furfural)	a,d,l	Sweet, woody, fragant, almond,caramel-like	F10
	1-(2-Furanyl)ethanone (acetyl furan)	a,d,l	Sweet, balsamic, cocoa, slightly coffee	
	5-Methyl-2-furan carboxaldehyde (5-Methylfurfural)	a,d,i,l	Sweet, caramel	
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)furanone (Furaneol)	a,d,g,i	Caramel-like, sweet	
	3-hydroxy-4,5-di methyl-2(5H)-furanone	g	Seasoning-like	
	3-Phenylfuran	a,d	Cocoa,green, nutty	
	2-Acetyl-5-methylfuran	l	Strong, nutty	
	5-Hydroxymethyl-2-furancarboxialdehyde	l	Fatty, musty, wax flowers	F13
	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3-furanone	l	Sweet, fruity, strawberry, hot sugar	
	2-Furancarboxylic acid	l	Odourless	
Furans-S-Compounds	2-methyl-3-(methylthio)furan	g	Meat-like	
Hydrocarbours	Toluene	a,d,i		
Ketones	2,3-Butanedione	a,b,d,h,k	Buttery (low)	
	2-Heptanone	a,d,h,i		
	4-Methylcyclohexanone	a,d		
	3-Hidroxy-2-butanone (acetoin)	a,b,h,i,k	Butter, cream	K2
	3,4,4-Trimethyl-2-cyclopenten-1-one	a,d		
	Propanone	b,h,i		
	2-Butanone	b,h		
	2,6-dimethylheptanone	e		
	Phenylethanone	e		
	1-octen-3-one	g	Mushroom-like	
	2-nonanone	h,j,j		
	2-Pentanone	h,k	Fruit	
	1-penten-3-one	e		
	2,3-Pentanedione	l	Bitter	
	Phenyl methyl ketone	k,l	Must, flower, almond, sweet	
	4-Methylphenyl methyl ketone	l	Fruity, floral, strong	
	2-Hydroxyphenyl methyl ketone	l	Heavy, floral, herbaceous, sweet	
	Benzylideneacetone	l	Sweet, floral, pungent, creamy	
	8-Hydroxy-3-methyl-iso-chroman-1-one	b		
Ketones-Lactones	g-decalactone	g		
	d-decalactone	g,i	Coconut-like	
	d-decenolactone	g	Coconut-like	
	d-octenolactone	g	Peach-like	
	g-nonolactone	g		
N-Compounds	Benzonitrile	i,l	Almond	
	3-Methylindole	i		
	Indole (Benzopyrrole)	d,j		
	Benzylhydrazine	e		
N-Compounds-Amides	N-(2-Phenylethyl)formamide	l	Essencies	
	N-(2-Phenylethyl)acetamide	l	Essencies	
	2-Phenylacetamide	l	Phenolic odour	
N-Compounds-Others	1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione (caffeine)	b		N6
Pyran derivatives	3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone (maltol)	a,d,i		P4
	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-pyran-4-one	b		
	3-Hydroxy-2-methyl-4-pyranone	l	Malt, roasted-nuts	
	3,4-Dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1H-2-benzopyran-1-one	a,d		
	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4-pyranone	l	Roasted	
	3,5-Dihydroxy-6-methyl-4-pyranone	l	Roasted	
Pyrazines	Pyrazine	l	Pungent, sweet	
	Methylpyrazine	a,b,c,d,e,f,l	Nutty, cocoa, chocolate, roasted-nuts,green	P21
	2,5-Dimethylpyrazine	a,b,c,d,e,f,i,j,l	Roasted, cooked,cocoa,nuts	P22
	2,6-Dimethylpyrazine	a,c,e,f,i,l	Nutty, coffee, green,roasted,cooked	P23
	Ethylpyrazine	a,b,d,e,l	Nutty, roasted,green,ether,rum,peanut-butter, musty, nutty	P26
	2,3-Dimethylpyrazine	a,b,c,d,e,f,i,j,l	Cooked, nutty, hazelnut,roasted,caramel,cocoa	
	2-Ethyl-5(or 6)-methylpyrazine	a,b,d,e	Cocoa, roasted, green	
	Trimethylpyrazine	a,b,c,d,f,g,i,j,l	Cocoa, roasted, cooked,green,earthy,peanut	P24
	2-Ethyl-3-methylpyrazine	a,d,l	Hazelnut, roasted,nutty,raw potato	
	2-Ethyl-6-methylpyrazine	d,j		
	3(or 2),5-Dimethyl-2(or 3)-ethylpyrazine	a,b,d,j	Roasted, smoky, praline,rum	P28
	Tetramethylpyrazine	a,b,c,d,e,f,i,j,k,l	Milk coffee, mocha, roasted, green,chocolate,cocoa	P25
	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazine	a	Cocoa, chocolate	P27
	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	a,c	Candy, sweet	P29
	2-isopropyl-3-methoxypyrazine	d	Garden peas, green, hazelnut	
	2,3-diethyl-5-methylpyrazine	g,i	Earthy	

Familie	Compounds	Authors	Odour description	ID
Pyrazines	3-isobutyl-2-methoxypyrazine	g	Bell pepper	
	Tetramethyl-2,5-dimethylpyrazine	f,j		
	2-Ethenyl-6-methylpyrazine	a,d	Roasted, smoky,hazelnut	
	2,5-dimethyl-3-(3-methylbutyl)pyrazine	d	Roasted, sweet, green	
	3,5(or 6)-Dimethyl-2-ethylpyrazine	a	Cocoa, praline, chocolate	
	2,3-Diethylpyrazine	l	Nutty, hazelnut, cereal, meaty	
Pyridines	5-Ethyl-2-methylpyrazine	l		
	Pyridine	a,d		
	2-Methylpyridine	a,d	Caramel-like, sweet	
	2-Pyridinamine	d		
	3-Methoxypyridine	e		
	1-(2-Pyridinyl)-1-propanone	a,d		
Pyrroles	4-Ethylpyridine	l		
	3-Hydroxy-2-methylpyridine	l	Wizened	
	3-Hydroxy-6-methylpyridine	l	Wizened	
	3-methylindol	g	Faecal	
	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	a,b,d,l	Honey, candy (low)	PY2
	2,3-Dimethyl-1H-pyrrole	a,d	Cocoa, praline, chocolate	
S-Compounds	3-Ethyl-2,5-dimethyl-1H-pyrrole	a,d	Cocoa, hazelnut, coffee, roasted	
	1-(2-Furanyl)methyl-1H-pyrrole (furfurylpyrrole)	a,d	Cocoa, roasted (low),chocolate,green	
	1-(1H-pyrrol-2-yl)ethanone (2-acetylpyrrole)	b,d,l	Cocoa, chocolate, hazelnut, roasted, bread,walnut,licorice	
	1H-Indole	a	Chocolate, green (low)	
	2-acetyl-1-pyrroline	g	Popcron-like	
	Pyrrole	l	Nutty, sweet	
	2-Acetyl-1-methylpyrrole	l		
	Dimethyl trisulphide	l	Sulfurous, earthy, camphor, wizened	
	Dimethyl disulphide	a,d,l	Meaty (low),sulfurous	
	Dimethyl trisulphide	d,g,i	Onion, cabbage, sweaty,sulfurous	
Terpenes	4,5-Dihydro-2-methylthiazole	a,d		
	4-Methyl-5-thiazolethanol	l	Beefy, nutty	T1
	Benzenethiol	l	Penetrating	
	alpha-pinene	b		
	beta-pinene	b		

Volatile compounds identified (a: Afoakwa, et. al. 2009; b: Ducki, et. al. 2008; Perego, et. al. 2004; Counet, et. al. 2002; Hashim, et. al. 1997; Hashim, et. al. 1994; Fraundorfer, et. al. 2008; Vitová, et. al. 2009; Huang, et. al. 2010; Nazzarudin, et. al. 2006; Rodríguez-Campos, et. al. 2011; Serra-Bonvehí, 2005)

Among the compounds identified, some of them had not been described previously as chocolate constituents as shown in Table 1.

The results showed that acid concentrations were high in the studied samples, especially acetic acid, which was the most abundant acid in low roasted samples, especially in those from Ecuador as reported by Jinap and Dimick (1990)²⁶ who indicated that cocoa beans from West Africa had medium pH and those from Ecuador, which had higher acid contents, had much more acidic pH values. The presence of acetic acid in such high concentrations in cocoa and chocolate products has been reported in previous research.^{20,23} Those acids are produced in the cocoa bean pulp during fermentation, and are responsible for the acidic, rancid, pungent and sour flavours that raw cocoa has prior to roasting.^{16,20} During fermentation, acid content affects pH value and consequently enzymatic reactions and flavour precursor formation.

In our chocolate samples, there was a significant increase in the concentration of pyrazines, aldehydes, furans and pyrroles the main compounds formed through the

reactions that occur during roasting, such as Strecker degradation and Maillard reaction.^{27,28} Aldehydes are compounds synthesized during the Maillard reaction, derived by the Strecker degradation of amino acids that play an important role in chocolate flavour balance. Therefore the amino acid structure dictates the resulting aldehydes, the amine and acid that can be produced from the amino acid degradation and also the resulting volatiles such as alcohols and esters.²⁹ Odour notes typically reported from aldehydes are chocolate, malty, nutty and cocoa flavours.^{12,14} In the final Maillard reaction stages aldol condensation and cyclisation lead to formation of heterocyclic aroma volatiles such as pyrazines.³⁰ The most abundant pyrazines were methylpyrazine; 2,5-dimethylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine; 2,3,5-trimethylpyrazine-TrMP and tetramethylpyrazine-TMP. Pyrazines also are produced due to aldehydes from Strecker degradation of amino acids and further heterocyclic compounds, which are dominant in cocoa flavour. Results showed an especially high average concentration of tetramethylpyrazine for both cocoa origins under study, which could be due to a high concentration of this compound in the raw cocoa beans because it is biosynthesized during cocoa fermentation. These results are in agreement with data reported previously by Perego (2004).¹⁵ Also Ziegler (1982)³¹ evaluated roasted cocoa flavour from the methylpyrazine fraction, showing that a concentration ratio of TMP/TrMP between about 1.5 and 2.5 was obtained when the degree of roasting was normal. In agreement with these values all studied samples were correctly roasted (ratio TMP/TrMP > 1.5). Pyrazine compounds are reported to produce odour notes such as: cocoa, nutty, roasted, cooked, milk coffee, hazelnut or praline^{12,16} on flavour quality, which are desirable for cocoa and chocolate products. Some pyran derivatives had already been formed at earlier moderate temperatures and relatively high humidity, and as reported by Ziegler (1991).³² This makes these volatiles a useful indicator, whose level can be used to monitor the early stages of roasting. These compounds stem from the degradation of sugar precursors in cocoa and decrease during roasting, probably as a result of their chemical reactivity. Their odour notes, as described by Serra-Bonvehí (2005),¹⁶ were malt, roasted and roasted nuts flavour. Alcohols are common compounds in food flavour, which in chocolate are produced during fermentation of sugars present in cocoa beans²⁴ and have also been related to volatile compounds of amino acid thermal degradation.²³ Additionally, the alcohols

produced react as precursors to other compounds such as 2,3-butanediol to 2,3-butanedione or phenylethyl alcohol to phenylacetaldehyde, and some alcohols are partially esterified with acetic acid; so, several acetate esters were found. In the studied chocolates, Ecuadorian samples had higher alcohol contents than the Ghanaian ones. Due to their volatility, alcohols are compounds with a strong flavour and odour notes reported as: flowery, rose, citrus, green, fruity or herbaceous, which could contribute to the cocoa bean and chocolate flavour.^{16,24}

A minimum concentration of alkanes (C10-C20) was identified in accordance to Serra-Bonvehí (2005)¹⁶ and to Hoskin and Dimick (1984)³¹ in less roasted samples from both origins. Those alkanes come from the decarboxilation occurring during roasting of the fatty acids present in raw cocoa beans. Thiazoles, like alkanes, were also present in low concentrations, and are considered to be products originating from amino acids.^{6,33} N-compounds are also present in low amounts in samples and are compounds from the Maillard reaction, taking place during roasting with sugars. Finally, an important number of esters were identified, which have basically fruity odour notes, although some esters also have important flowery notes^{16,20} and are important flavour components of natural products and fermented foods.

Roasting time effect on volatile compounds of dark chocolates from different geographical origins

A two-factor ANOVA (origin and roasting time) with interactions was performed in order to determine whether the considered factors had an effect on the concentration of volatile compounds in the studied chocolates. Results of the ANOVA are shown in Table 1 displaying that for most of the studied compounds the interaction between the two effects was significant, indicating that the effect of roasting time on the concentration of the volatile compounds depended on the cocoa origin and vice versa. This has been demonstrated in previous research by Hernández (1994),¹ who differentiate cocoa masses by geographical origin and roasting conditions by using gas chromatography. For four compounds, only the origin effect was significant: nonanal; 2-phenylethyl acetate; 3-hydroxy-2-butanone and acetophenone. Although during roasting the oxidation of unsaturated fatty acids, as oleic acid, is expected resulting in an increase of secondary oxidation products such as nonanal,³⁴ in our samples the

increase was recorded, especially in Ecuadorian samples but was not significantly. In five other compounds differences were only due to the roasting time effect: 2-nonanol; 2-methyl hexadecanoate; 5,6-dihydro-6-pentyl-2H-yan-2-one; 2,5-dimethylpyrazine and tetramethylpyrazine. Finally, there were six compounds whose concentration was not significantly affected by the studied factors: undecanoic acid; 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-(1-methylpropyl) phenol; methyl 7-octadecanoate; phenylmethyl 9-octadecenoate; 5-phenyl-2-pentanone and 2-ethylpyrazine. As for the other compounds identified, differences were found to be due to the effects of origin and roasting time or to the interaction (origin x roasting time). The volatile profile was compared by principal component analysis (PCA) to study the variability in volatile compounds among the studied samples. The compounds listed in Table 1 chosen for the multivariate analysis were those that varied significantly in the factors under study (origin, roasting time or interaction). The three first principal components (PCs), which explained 78.1% of total variability, were considered. Figure 2 showed the loadings and scores plot for the first two principal components.

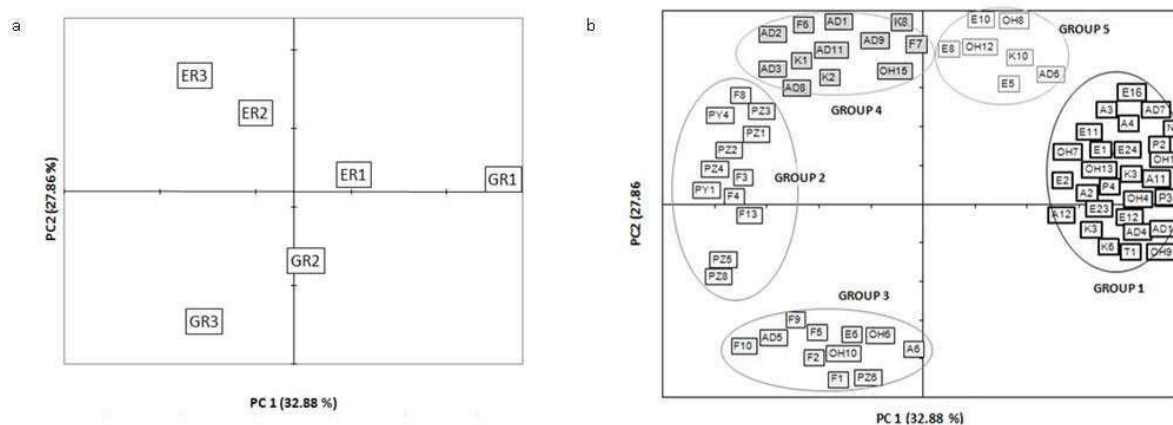


Figure 2. Principal component analysis of the variation of volatile compounds in the dark chocolate samples, (PC1 and PC2): a) score plot, b) loading plot. Code of samples: origin (E=Ecuador and G=Ghana) and roasting time (R1=30.5 minutes; R2=34.5 minutes and R3=38.5 minutes). Identification of volatile compounds in Table 1.

PC1, which explained 32.9% of variability separated, samples according to roasting time, from samples with short roasting time (ER1 and GR1) on the right-hand side from samples with a longer roasting time (ER3 and GR3) on the left-hand side. The second PC, which explained 27.9%, separated the samples according to their origin with

medium and long roasting time (R2 and R3), with Ecuadorian samples in the upper quadrant and Ghanaian samples below. Finally, the third PC, which explained 17.3% of variability, separated the Ecuadorian samples according to roasting degree (Figure 3).

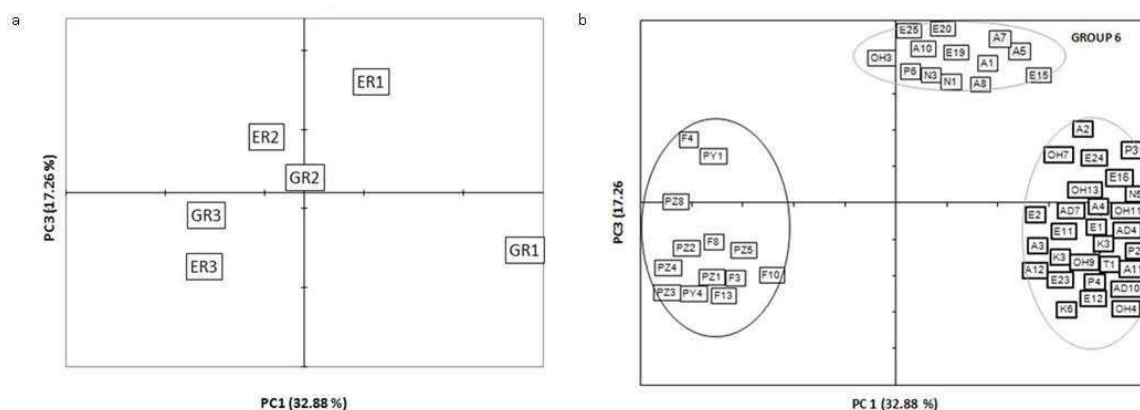


Figure 3. Principal component analysis of the variation of volatile compounds in the dark chocolate samples, (PC1 and PC3): a) score plot b) loading plot. Code of samples: origin (E=Ecuador and G=Ghana) and roasting time (R1=30.5 minutes; R2=34.5 minutes and R3=38.5 minutes). Identification of volatile compounds in Table 1.

The loading plots show each compound located according to its relationship with the components and can be used to explain how it varied among samples. Thus, the volatile compounds were grouped according to their position on the PC plots. Only those compounds with a correlation coefficient with at least one of the components (r_{PC1} , r_{PC2} or r_{PC3}) higher than 0.60 or lower than -0.60 were taken into account and the rest ($n=25$) were not considered as they did not display a clear variation. As a result, six groups of compounds were identified. The groups are graphically shown on the plots and circles gather all of the compounds corresponding to a group. The groups obtained with the multivariate analysis are indicated with the identification code (ID) for each compound, as shown in Table 1.

Regarding compounds correlated with PC1, there is a group of compounds (Group 1, $n=27$) that appeared on the right-hand side of PC1. These compounds were those present in the slightly roasted chocolates, especially in the Ghanaian one, and on increasing roasting time the amount of these compounds diminished or even disappeared. Compounds in this group have a very different structure. On the other hand, on the left-hand side of PC1 a second group of compounds appeared (G2, $n=13$).

These compounds appeared for samples of both origins on increasing roasting time. Regarding PC2, a third group (Group 3, n=13) are located in the lower quadrant and correspond to the compounds that appeared in Ghanaian chocolates on increasing roasting time (G3). On the other hand, on the positive side of the PC2, the compounds were divided into two groups. One group of compounds (G4, n=18) located on the left-hand side, which appear in long-roasted Ecuadorian chocolates. The other group (G5, n=7) is located on the right-hand side and includes those compounds that disappear in Ghanaian chocolates during roasting but remain in Ecuadorian chocolate. Finally, regarding PC3 (Figure 3) there is a final group of compounds (Group 6, n=13), which are the compounds identified in the slightly roasted Ecuadorian chocolates, that disappeared during roasting time. These compounds in Ghanaian samples were found in a lower proportion or did not vary during roasting.

Figure 4 summarizes the distribution of volatile compounds in the established groups for each family of compounds.

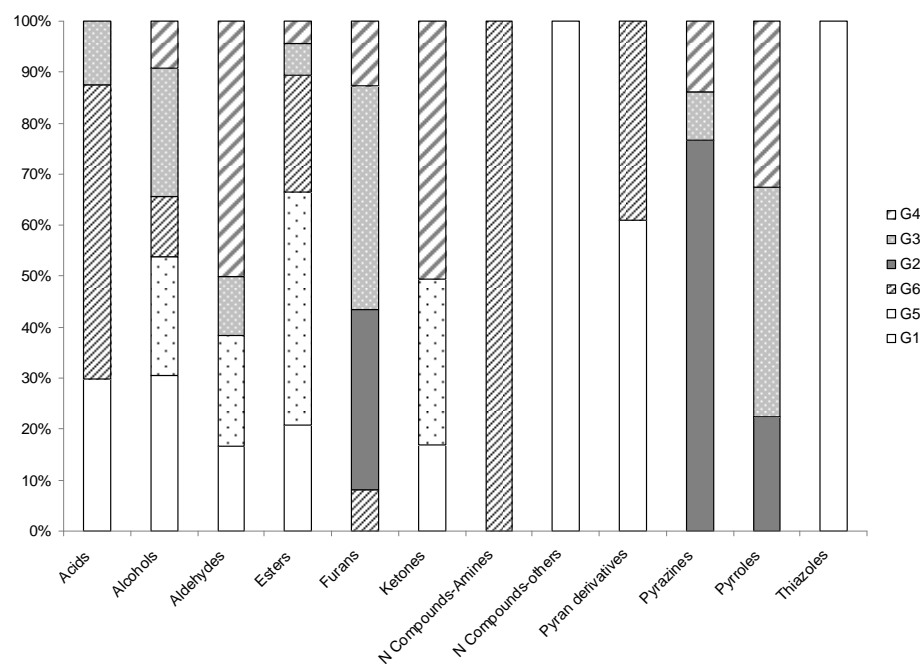


Figure 4. Distribution of volatile compounds in the groups established according to the position in the PC plots for each family of compounds.

As shown, acids, alcohols, nitrogen compounds, pyranones and thiazoles fall within the groups G1, G5 and G6. These are compounds that appeared in dark chocolates made

with slightly-roasted cocoa and whose concentration decreased on increasing roasting time. These compounds, as demonstrated by Counet (2002),¹² are removed from the final product by the thermal treatments, especially during the roasting of cocoa beans. Furans, pyrazines and pyrans appeared in groups G2, G3 and G4, which included those compounds that increased with roasting time; therefore, they are compounds responsible for the typical intense aroma of chocolate products. In some aldehydes and ketones, the concentration decreased during roasting (G1), but most of them fell within group 4, comprising compounds that appear on increasing roasting time in Ecuadorian chocolates.

CONCLUSIONS

The volatile compounds identified in samples and variations in concentration with roasting time depended on the geographical origin of the cocoa beans. The multivariate analysis could identify different groups of volatile compounds according to variation among the studied samples and, therefore, according to the effects of roasting time and geographical origin. Each compound was ascribed to one of the following traits: compounds whose concentration decreased with roasting time in samples from Ghana, Ecuador or in samples from both origins, and those compounds whose concentration increased with roasting time for one or both origins. The principal component analysis is a useful tool to deal with the large amount of data obtained from the volatile composition analysis of complex products like chocolate. PCA allows not only differences in volatile compounds to be characterized among samples, but also to systematically classify the compounds according to their variation among samples and the studied factors: roasting time and the geographical origin of cocoa beans.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Chocolates Simón Coll S.A. for providing samples of chocolate. To MICINN (Spain) for the contract of the author Tarrega (Juan de la Cierva Program). CIBERobn is an initiative of the Instituto Carlos III.

REFERENCES

- [1] C.V. Hernández, D.N. Rutledge. Multivariate statistical analysis of gas chromatograms to differentiate cocoa masses by geographical origin and roasting conditions. *Analyst*. 1994, 119, 1171-1176.
- [2] J. Clapperton, S. Yow, J. Chan, D. Lim, R. Lockwood, L. Romanczyk, J. Hammerstone. The contribution of genotype to cocoa (*Theobroma cacao* L) flavour. *Trop. Agric. (Trinidad)*. 1994, 71, 303-308.
- [3] S. Jinap, P.S. Dimick, R. Hollender. Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food Control* 1995, 6(2), 105-110.
- [4] H.R. Kattenberg, A. Kemmink. The flavor of cocoa in relation to the origin and processing of the cocoa beans. *Dev. Food Sci. Food Flavors, Ingred. Compos.* 1993, 32, 1-22.
- [5] E.O. Afoakwa, A. Paterson, M. Fowler, A. Ryan. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: a critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2008, 48, 840-857.
- [6] G. Reineccius. Flavorings materials made by processing. In *Flavour Chemistry and Technology*. (Ed: G. Reineccius), CRC Press, Boca Raton, USA, 2006, pp. 261-298.
- [7] M. Heinzler, K. Eichner. The role of amodori compounds during cocoa processing - formation of aroma compounds under roasting conditions. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* 1992, 21, 445-450.
- [8] P.S. Dimick, J.M. Hoskin. Chemico-physical aspects of chocolate processing-a review. *Can. Inst. J Food Sci. Tech.* 1981, 4, 269-282.
- [9] P.G. Keeney. Various interactions in chocolate flavour. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1972, 49, 567-572.
- [10] S. Jinap, W.I.W. Rosli, A.R. Russly, L.M. Nordin. Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*). *J. Sci. Food Agric.* 1991, 77, 441-448.
- [11] E. Afoakwa. Industrial chocolate manufacture - processes and factors influencing quality. In *Chocolate science and technology*, (Ed: E. Afoakwa.), Wiley-Blackwell, Oxford, U.K. 2010, pp. 35-57.
- [12] C. Counet, D. Callemien, C. Ouwerx, S. Collin. Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of samples before and after conching. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 2385-2391.

- [13] J. Hoskin, P. Dimick. Role of nonenzymatic browning during the processing of chocolates. A review. *Process Biochem.* 1983, 11, 92-104.
- [14] E.O. Afoakwa, A. Paterson, M. Fowler, A. Ryan. Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying in particle size distribution and fat content using GC-mass spectrometry and GC-olfactometry. *Food Chem.* 2009, 113(1), 208-215.
- [15] P. Perego, B. Fabiano, M. Caviocchioli, M. del Borghi. Cocoa quality and processing. A study by solid-phase microextraction and gas chromatography analysis of methylpyrazines. *Food Biop. Proces.* 2004, 84(C4), 291-297.
- [16] J. Serra-Bonvehí. Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. *Eur. Food Res. Technol.* 2005, 221, 19-29.
- [17] M. Torres-Moreno, A. Tarrega, E. Costell, C. Blanch. Dark chocolate acceptability: influence of cocoa origin and processing conditions. *J. Sci. Food Agric.*, 2011, DOI 10.1002/jsfa.4592.
- [18] Y. Huang, S.A. Barringer. Alkylpyrazines and other volatiles in cocoa liquors at pH 5 to 8, by selected ion flow tube-mass spectrometry (SIFT-MS). *J. Food Sci.* 2010, 51(1), C121-C127.
- [19] S. Ducki, J. Miralles-Garcia, A. Zumbé, A. Tornero, D.M. Storey. Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products. *Talanta.* 2008, 74(5), 1166-1174.
- [20] F. Frauendorfer, P. Schieberle. Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 10244-10251.
- [21] L. Hashim, H. Chaveron. Extraction and determination of methylpyrazines in cocoa beans using coupled steam distillation-microdestillator. *Food Res. Int.* 1994, 27, 537-544.
- [22] L. Hashim, S. Hudiyono, H. Chaveron. Volatile compounds of oxidized cocoa butter. *Food Res.Int.* 1997, 30(3/4), 163-169.
- [23] R. Nazaruddin, H. Osman, S. Mamot, S. Wahid, A.Nor. Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted malaysian cocoa beans. *J. Food Process. Preserv.* 2006, 30(3), 280-298.
- [24] J. Rodríguez-Campos, H.B. Escalona-Buendía, I. Orozco-Avila, E. Lugo-Cervantes, M.E. Jaramillo-Flores. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa

(Theobroma cacao L.) during fermentation and drying processes using principal component analysis. *Food Res. Int.* 2011, 44, 250-258.

[25] E. Vítová, B. Loupancová, H. Stoudková, I. Macku, J. Zemanová, L. Babak. Effect of fat composition on some physic-chemical parameters and sensorial evaluation of dark chocolate. *J. Food Nutr. Res.* 2009, 48(2), 72-79.

[26] S. Jinap, P.S. Dimick. Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. *J. Food Sci.* 1990, 55(2), 547-550.

[27] P.S. Dimick, J.C. Hoskin. The chemistry of flavour development in chocolate. In S.T. Beckett (Ed.). *Industrial chocolate manufacture and use* Oxford: Blackwell Science, Oxford, U.K. 1999, pp. 137–152.

[28] J.S. Bonvehí, V. Coll. Factors affecting the formation of alkylpyrazines during roasting treatment in natural and alkalinized cocoa powder. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50(13), 3743-50.

[29] G. Ziegleder. Flavour development in cocoa and chocolate. In S. Beckett (Ed.). *Industrial chocolate manufacture and use* Wiley-Blackwell: Oxford, U.K. 2009, pp. 169-191.

[30] E. Afoakwa. The chemistry of flavour development during cocoa processing and chocolate manufacture. In E. Afoakwa (Ed.). *Chocolate science and technology* Wiley-Blackwell: Oxford, U.K. 2010, pp. 58-72.

[31] G. Ziegleder. Gaschromatographische Röstgradbestimmung von kakao über methylierte pyrazine. *D. Lebens. Rund.* 1982,, 78, 77-81.

[32] G. Ziegleder. Composition of flavor extracts of raw and roasted cocoas. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 1991a, 192, 512-525.

[33] J.C. Hoskin, P.S. Dimick,. Role of sulphur compounds in the development of chocolate flavour-a review. *Process. Biochem.* 1984, 19, 150-156.

[34] M. Lipp, C. Simoneau, F. Ulberth, E. Anklam, C. Crews, P. Brereton, B. de Greyt, W. Schwack, C. Wiedmaier. Composition of genuine cocoa butter and cocoa butter equivalents. *J. Food Comp. Anal.* 2001, 14(4), 399-408.

CAPÍTULO 3.

DARK CHOCOLATE ACCEPTABILITY: INFLUENCE OF COCOA ORIGIN AND PROCESSING CONDITIONS

M. Torres-Moreno*¹, A. Tarrega², E. Costell² and C. Blanch¹

¹ Food Science Research Group. Universitat de Vic. Sagrada Família 7, 08500 Vic,
Barcelona (Spain).

² Laboratory of Physical and Sensory properties. Instituto de Agroquímica y Tecnología
de los Alimentos, Avda. Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia (Spain).

Journal of the Science of Food and Agriculture, DOI 10.1002/jsfa.4592.

RESUMEN

La popularidad del chocolate y los productos del cacao reside fundamentalmente en sus propiedades sensoriales, tales como el olor, el aroma y el sabor, siendo productos tradicionalmente más consumidos por placer que por sus propiedades nutricionales. Las propiedades del chocolate pueden variar dependiendo del origen, composición y proceso de fabricación, lo cual puede afectar a la aceptabilidad del consumidor. Sin embargo, el conocimiento de las propiedades físicoquímicas y sensoriales del chocolate no siempre es suficiente para predecir la aceptabilidad del mismo por parte del consumidor, porque la aceptabilidad también depende de las características individuales y preferencias de los consumidores.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del origen geográfico del cacao (Ghana y Ecuador) y las condiciones de procesado (tiempo de tostado y de conchado) en la aceptabilidad de las muestras de chocolate negro elaboradas.

La aceptabilidad global y la aceptabilidad de distintos atributos (color, sabor, olor y textura) fueron evaluadas por 95 consumidores. Las diferencias encontradas en la aceptabilidad entre las muestras de chocolate se relacionaron fundamentalmente con la aceptabilidad del sabor. En las muestras de Ghana, el tostado del cacao durante periodos más largos de tiempo se asoció a una disminución de la aceptabilidad de las muestras, mientras que en las muestras de Ecuador el factor tiempo no influyó en la aceptabilidad. Al segmentarse los consumidores en base a su aceptabilidad se observó este comportamiento en la mayor parte de consumidores, concretamente, para dos subgrupos de consumidores con distinta frecuencia de consumo de chocolate negro. Sin embargo, para un tercer grupo de consumidores definido como "*distinguidores*", las muestras más aceptadas fueron las producidas con combinaciones específicas de tiempo de tostado y conchado para cada uno de los orígenes geográficos considerados.

Como conclusión del trabajo podemos establecer que al plantear la producción de chocolate negro de origen único, resulta importante conocer tanto las preferencias del

público al que va destinado así como la selección de las condiciones apropiadas de procesado, concretamente el tostado y el conchado.

ABSTRACT

BACKGROUND

Chocolate properties can vary depending on cocoa origin, composition and manufacturing procedure, which affect consumer acceptability. The aim of this work was to study the effect of two cocoa origins (Ghana and Ecuador) and two processing conditions (roasting time and conching time) on dark chocolate acceptability.

RESULTS

Overall acceptability and acceptability for different attributes (colour, flavour, odour and texture) was evaluated by 95 consumers. Differences in acceptability among dark chocolates were mainly related to differences in flavour acceptability. The use of a long roasting time lowered chocolate acceptability in Ghanaian samples while it had no effect on acceptability of Ecuadorian chocolates. This response was observed for most part of consumers (two subgroups with different frequency consumption of dark chocolate). However, for a third group of consumers identified as distinguishers, the most acceptable dark chocolate samples were those produced with specific combinations of roasting time and conching time for each of the cocoa geographical origin considered.

CONCLUSION

To produce dark chocolates from a single origin it is important to know the target market preferences and to select the appropriate roasting and conching conditions.

Keywords: dark chocolate, cocoa origin, roasting, conching, consumer acceptance.

INTRODUCTION

Chocolate has traditionally been consumed more for pleasure than for nutritional reasons as, for a long time, it has been considered a non-healthy food, due to its high fat and sugar contents. However, in recent years, nutritional research has pointed out that consumption of dark chocolate has potential health benefit, contributed mainly by certain cocoa compounds like flavonoids.¹⁻⁴ These compounds have antioxidant activity and beneficial effects on cardiovascular diseases.⁵⁻⁸

Chocolate is the product obtained from cocoa products and sugars which contains not less than 350 g kg⁻¹ of dry cocoa solids, including not less than 180 g kg⁻¹ of cocoa butter and not less than 140 g kg⁻¹ of dry non-fat cocoa solids.⁹ Dark chocolate contains at least 140 g kg⁻¹ chocolate liquor but may contain as much as 600 g kg⁻¹, with the remainder being cocoa butter, sugar, and other additives like lecithin or flavourings such as vanillin. Per capita, consumption levels tend to be higher in the more northerly European countries or in those with a strong chocolate tradition; major examples include Switzerland, the UK, Belgium or Germany.¹⁰ The popularity of cocoa products resides mainly in their sensory properties, such as taste and flavour and similarly to the wine and coffee markets, the demand for chocolate has become more sophisticated in recent years. Consumers have become especially interested in premium chocolates with a variety of exotic ingredients, chocolates made from single-origin cocoa beans, such as those from Ghana, Ecuador or Venezuela, or organic and fair-trade chocolates.¹¹

Several authors have studied the changes in physical and chemical composition during chocolate manufacture,¹²⁻¹⁴ and a large number of studies deal with the effect of processing conditions and cocoa origin on volatile compounds and on the flavour of chocolates.¹⁵⁻¹⁷ Most of the changes are related to the time and temperature of roasting and to cocoa beans composition.^{18,19} Refining chocolate using a three or five roll refiner, leads to size reduction of particles and this is an important step to obtain a smooth texture.²⁰ Final particle size critically influences the rheological and sensory properties.^{21,22} Conching is normally carried out by agitating chocolate at high

temperatures (>40°C) and it's regarded as an essential process to obtain an adequate texture of chocolate mass. Variation in conching time and temperature can modify viscosity, final texture and flavour of chocolate.²³⁻²⁵ Finally, tempering is essential for obtaining the desired amount and type of crystals of cocoa butter, that influence the final quality properties such as colour, hardness, handling, finish and shelf-life characteristics.²⁶⁻²⁸

The knowledge of only the physicochemical and sensory properties of chocolate does not always allow us to predict consumer acceptability, because acceptability also depends on the individual characteristics and preferences of consumers.²⁹ However, most studies on consumer acceptability of chocolate deal with milk chocolate,^{30,31} filled chocolate³² or confectionery products.^{33,34} However, little literature has focused on the acceptance of dark chocolate by consumers and the factors affecting it. Furthermore, in consumer studies segmentation is usually performed to study different consumer patterns. As demonstrated in several studies³⁵ when evaluating acceptance of different food products, the sensory segments transcend conventional geo-demographics. Sensory segments reflect the preference of the consumers when they are presented with the products.

The aim of this work, therefore, was to study the effect of cocoa origin and processing conditions on chocolate acceptability, considering also the influence on consumer response of demographic characteristics, consumer habits and individual preferences, as well.

MATERIALS AND METHODS

Samples description

Two groups of six dark chocolate samples with different geographical origin cocoa beans (Ecuador and Ghana), varying in processing conditions, three roasting times (R1=30.5, R2=34.5 and R3=38.5 min) and two conching times (C1=24 and C2=42 h), were used in this study. Chocolates containing 510 g kg⁻¹ (w/w) of cocoa were prepared in a chocolate factory (Chocolates Simón Coll, S.A. from Sant Sadurní d'Anoia, Barcelona, Spain) following a traditional chocolate manufacturing process.³⁶ First,

cocoa beans were roasted in a ball roaster. After roasting, beans were submitted to winnowing and the cocoa nibs obtained were milled. The cocoa mass obtained was mixed with sucrose and then refined using a five-roll refiner to reduce particle size. The refined mixture was melted at 40-45°C and the conching process was carried out in a longitudinal conche. To improve viscosity and liquefaction, lecithin (0.10 g kg⁻¹) and cocoa butter (40 g kg⁻¹) were added. Samples were incubated at 32°C for melting and tempering. Finally, chocolate samples were moulded using polycarbonate moulds and kept at 12-21°C and 70% relative humidity.

Proximate analysis

The unroasted cocoa beans and the chocolate samples were analyzed in duplicate for moisture, ash, protein, total fat and total dietary fibre content following the AOAC methods for cacao beans and its products.³⁷ Total carbohydrates content was estimated by difference.

Moisture content of the samples was determined by the gravimetric method by drying 2 g of grinded sample at 103 ± 2°C to constant weight in an air oven. Ash content was determined by using a muffle furnace at 550-600°C for 4 h. Fat was determined in a Soxhlet apparatus using petroleum ether as solvent of extraction. Total organic nitrogen was determined by using the macro Kjeldahl procedure. Protein content of samples was calculated using 6.25 as the conversion factor (Protein = Nitrogen * 6.25). Crude fibre content was determined by the AOAC method for cocoa products not containing dairy ingredients.³⁷

Overall chemicals and solvents were analytical grade, unless otherwise specified.

Consumer test

A group of 95 consumers participated on the study. Prior to evaluation, consumers were given a brief overview of how the sensory test would be conducted and they filled in a survey about demographic characteristics and chocolate consumption habits (Table 1).

Table 1. Demographic, sociological and consumption habits of consumers (n=95).

Characteristics	Category	Percentage (%)
Gender	Men	25.3
	Women	74.7
Age	18-30 years	58.9
	31-45 years	25.3
	>45 years	15.8
Education	Primary studies	18.9
	High school certificate	40.0
	University degree	41.1
Occupation	Employee	40.0
	Student	53.7
	Housewife	4.2
	Unemployed	2.1
Consumption of dark chocolate	Daily	16.8
	Weekly	26.3
	Occasionally	43.5
	Almost never	11.6

Overall acceptability and acceptability from different attributes (colour, odour, flavour and texture) were evaluated by consumers using a 9-point hedonic scale ranging from 1 (“dislike extremely”) to 9 (“like extremely”). Each consumer participated in two sessions and evaluated six samples per session. To avoid the effect of the order of sample presentation³⁸ an equilibrated Williams design was used. Chocolate test portions (10x10x5 mm) were served at room temperature 22±1°C in white plastic dishes; each one coded with three digit random numbers. During sensory evaluation, mineral water and crackers were provided for mouth-rinsing.

Data analysis

A one factor ANOVA was used to study the effect of cocoa origin on the chemical composition of unroasted cocoa bean samples. A three factor ANOVA with interactions was used in order to study the effect of cocoa origin, roasting time and conching time on chemical composition of chocolates.

Pearson Chi-Square test of normality was applied for each sample. Chi-Square statistic value and its corresponding probability were obtained when applying the Pearson test to compare the observed frequencies of the data with those expected assuming a normal distribution.

The non-parametric Kruskal-Wallis analysis of variance was applied to study the effect of sample in overall acceptability and acceptability for different attributes. Significant differences between means were established by using the Dunn's procedure ($\alpha \leq 0.05$). Pearson correlation test was performed on individual scores of overall acceptability and flavour acceptability.

To study the influence of gender, age group and chocolate consumption frequency on acceptability data, consumers were grouped on groups of consumers according to their characteristics: gender (male and female), age group (18-30 years, 31-45 years and > 45 years) and chocolate consumption frequency (usually consumers of dark chocolate: consumption daily or weekly; and non-consumers: consumption occasionally and almost never). According to these groups, analysis of variance of two factors (demographic aspect and sample) with interaction was applied.

Segmentation of consumers according to their acceptability of samples was obtained through hierarchical cluster analysis with squared Euclidian distances and Ward's method. For segments obtained by cluster analysis a three factor ANOVA with interactions was used in order to study the effect of cocoa origin, roasting time and conching time on acceptability of chocolate samples. Significant differences between means were established by Duncan's test ($\alpha \leq 0.05$).

All the statistical analyses were carried out with XLSTAT Pro software version 2009 (Addinsoft, France).

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition of the cocoa and chocolate samples

The composition of unroasted cocoa beans varied depending on their geographical origin (Table 2). Ecuadorian cocoa beans showed significantly higher moisture, fibre and total fat content than Ghanaian ones and lower carbohydrates. No significant differences were observed in protein and ash contents of cocoa beans between the two origins. Regarding the chemical composition of chocolate samples, only carbohydrate content and fat content values varied significantly (Table 2) due to the origin effect ($F = 1179.73$, $p = 0.02$; $F = 996.74$, $p = 0.020$ respectively). The chemical composition of chocolate samples was in line with values reported from the USDA Database for dark chocolate with 450-590 g kg⁻¹ of cocoa solids.³⁹ Carbohydrates were the principal nutrient and their content in chocolates was from 580 to 600 g kg⁻¹. Total fat and protein content was from 300 to 320 g kg⁻¹ and less than 70 g kg⁻¹, respectively. Total dietary fibre, ash and water content were less than 20 g kg⁻¹ for all samples.

Table 2. Chemical composition of the unroasted cocoa-beans and chocolate samples from Ecuador and Ghana.

Samples		Proximates (g kg ⁻¹)					
		Moisture	Ash	Protein	Carbohydrates	Fibre	Fat
Unroasted cocoa beans	Ecuador	59.5*	40.3	127.9	337.8*	194.7*	434.5*
	Ghana	51.1	35.6	128.2	365.8	113.0	419.3
Chocolate samples	Ecuador	14.2	15.6	64.1	598.9 ⁺	16.5	307.1 ⁺
	Ghana	14.3	15.3	64.1	604.2	16.9	302.3

Mean values per kg.

For unroasted cocoa beans, * indicates significant differences among values ($p < 0.05$) according to Tukey test.

For chocolate samples, ⁺ indicates significant differences among values ($p < 0.05$) according to Tukey test.

Acceptability of dark chocolates

In consumer studies, it should be taken into account that the studied population can contain different subgroups with different criteria and then the average values obtained from the whole population tested do not reflect the real consumer response. For this reason, in this study the normality of the distribution of acceptability values for each chocolate was tested. Figure 1 shows for each chocolate the frequencies of the acceptability scores (1 to 9) given by consumers illustrating the characteristics of the distribution obtained. Figure 1 also displays the Chi-Square statistics and their probabilities. For all samples normality test showed a lack of normality of data ($p >$

0.05) indicating different preference criteria among consumers. Some of the samples showed distributions with one mode, and the only cause of the normality lack was a certain degree of asymmetry. In other samples, like Ghanaian and Ecuadorian chocolates with long roasting times (R3C1 and R3C2), distributions with two modes was observed. In these samples, the first mode appeared at the lower scale values (< 4), corresponding to sample rejection. The second mode appeared at higher scale values (6-8), which corresponded to sample acceptance. Thus, the observed score frequencies for these samples suggest a mixture of two normal distributions, indicating that the whole population of consumers cannot be considered representative of a homogeneous population, but from two different populations; one who likes the chocolate tested and another who dislikes it.

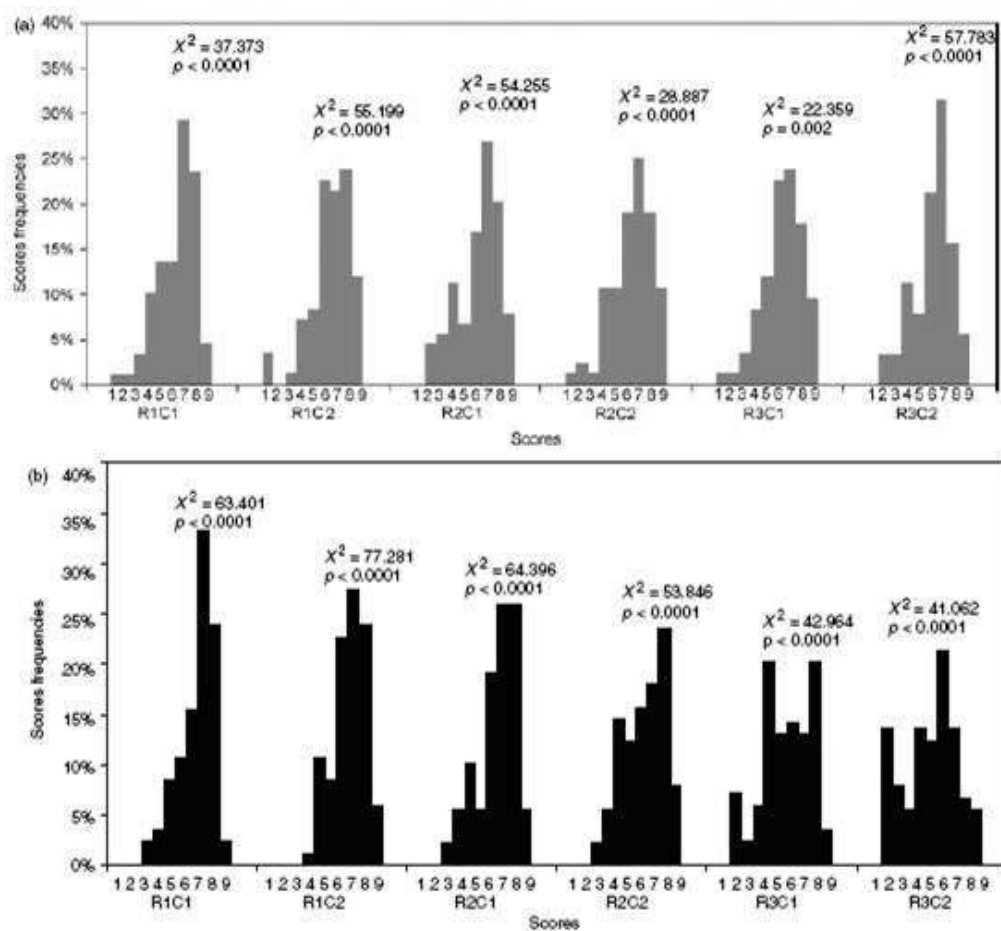


Figure 1. Frequencies of acceptability scores (values from 1 to 9) given by 95 consumers to chocolate samples (a: Ecuadorian samples, b: Ghanaian samples). Chi-Square values of Pearson test and corresponding probability. Code of samples: roasting time (R1=30.5 minutes; R2=34.5 minutes and R3=38.5 minutes) and conching time (C1=24 hours and C2=42 hours).

For this reason, differences in acceptability among samples were studied using a non-parametric method. According to results, significant differences in overall acceptability were found among samples ($K = 52.68$, $p < 0.0001$). As shown in Table 3 chocolates with significantly lower acceptance were those obtained from Ghana cocoa beans roasted for a long time (more than 35 min). No differences were observed among Ecuadorian samples.

Table 3. Mean overall acceptability values and flavour acceptability values for chocolate samples obtained with different cocoa origin and different processing conditions.

Samples characteristics			Overall acceptability	Flavour acceptability
Geographical origin	Roasting time	Conching time		
ECUADOR	R1	C1	6.40bc	6.32abc
	R1	C2	6.76c	6.86c
	R2	C1	6.31bc	6.25abc
	R2	C2	6.52bc	6.68bc
	R3	C1	6.50bc	6.52bc
	R3	C2	6.31bc	6.34abc
GHANA	R1	C1	6.47bc	6.46bc
	R1	C2	6.68bc	6.60bc
	R2	C1	6.46bc	6.59bc
	R2	C2	6.27bc	6.29abc
	R3	C1	5.50ab	5.59ab
	R3	C2	4.94a	5.23a

Code of samples: roasting time (R1=30.5 minutes; R2=34.5 minutes and R3=38.5 minutes) and conching time (C1=24 hours and C2=42 hours).

Values not sharing letters within a column are significantly different ($p < 0.0001$) according to Dunn's procedure.

Acceptability according to sensory attributes (colour, odour, flavour and texture) was also studied. Analysis of variance results showed no differences for colour, odour and texture acceptability among chocolates ($K = 15.70$, $p = 0.152$; $K = 8.25$, $p = 0.691$ and $K = 10.45$, $p = 0.490$, respectively). Only flavour acceptability varied significantly among samples ($K = 38.97$, $p < 0.0001$). Differences in flavour acceptability followed the same trend as overall acceptability, being the less preferred chocolates those from Ghanaian beans roasted for the longest time (Table 3).

Individual scores on flavour acceptability show to be correlated to overall acceptability ($R^2 = 0.789$) (Figure 2). So, in this case, differences in acceptability among samples can be mainly attributed to differences in flavor acceptability. These results confirm those reported by Afoackwa⁴⁰ who manifested that the flavour of chocolates dictates their

preference. Differences in the aromatic fraction for the different cocoa origins and changes occurring during roasting described in previous studies,⁴¹ can be the cause of differences in flavour acceptability.

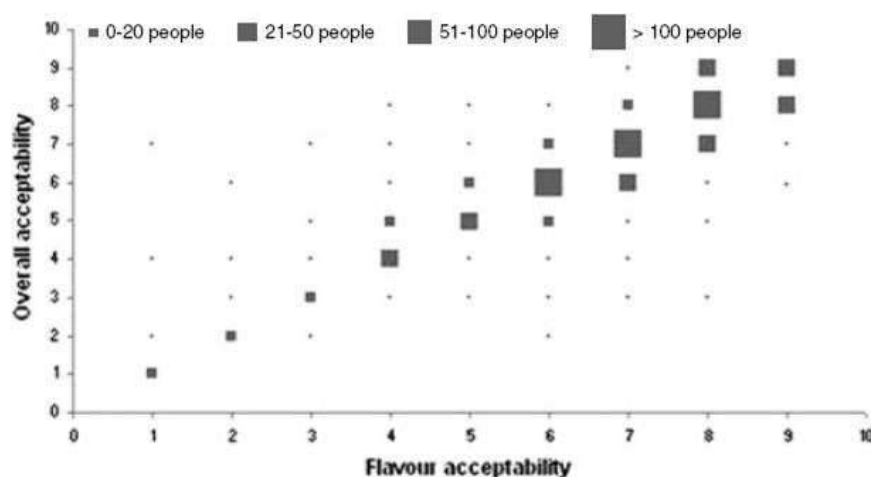


Figure 2. Relation between overall acceptability and flavour acceptability scores of chocolate samples.

Influence of demographic characteristics and consumer habits on acceptability of dark chocolates

In some cases, different preference patterns are related to demographic characteristics or consumer habits, therefore, its study should afford more complete information about the real acceptability of the products under evaluation.⁴²

In the present study, according to ANOVA results showed in table 4 the effects of gender and age group on chocolate acceptability and their interaction with sample effect were not significant. These results indicated that when considering the gender or the age of consumers there was no differences in their acceptability criteria.

Table 4. Two-way analysis of variance (demographic aspect and sample) with interactions for overall acceptability data of chocolate samples.

Factors	Overall acceptability	
	F-ratio	P-value
Gender	3.304	0.069
Sample	3.579	< 0.0001
Gender*sample	1.097	0.360
Age	2.423	0.089
Sample	2.353	0.007
Age*sample	1.168	0.268
Chocolate consumption	36.795	< 0.0001
Sample	6.987	< 0.0001
Chocolate consumption*sample	0.914	0.526

When considering the influence of dark chocolate consumption on acceptability data, consumers were grouped in two groups: usually consumers of dark chocolate (daily or weekly) and non-consumers (occasionally and almost never). Analysis of variance showed that frequency of consumption had a significant effect on acceptability (Table 4). Consumers of dark chocolate awarded significantly higher acceptability values to all chocolate samples (mean scores from 5.2 to 7.1) compared to non-consumers (4.7 to 6.4). Duffy and Bartoshuk⁴³ obtained similar results, concluding that differences in acceptability responses were not only due to sensory attributes of samples, but also to other consumer characteristics, such as consumer habits and individual preferences. This would seem to confirm that habitual consumption of a food increases its acceptability. Luckow *et al.*⁴⁴ observed a significant increase in the acceptability of a series of probiotic beverages after they had been consumed daily for a week, and Stein *et al.*⁴⁵ found a positive correlation between familiarity and the level of liking in a study on the acceptance of bitter beverages.

Influence of individual preferences on acceptability of dark chocolates

Consumers were also segmented according to chocolate acceptability scores and three groups of consumers were identified: cluster 1 composed by 25 participants, cluster 2 by 48 and cluster 3 having 22 participants (Figure 3).

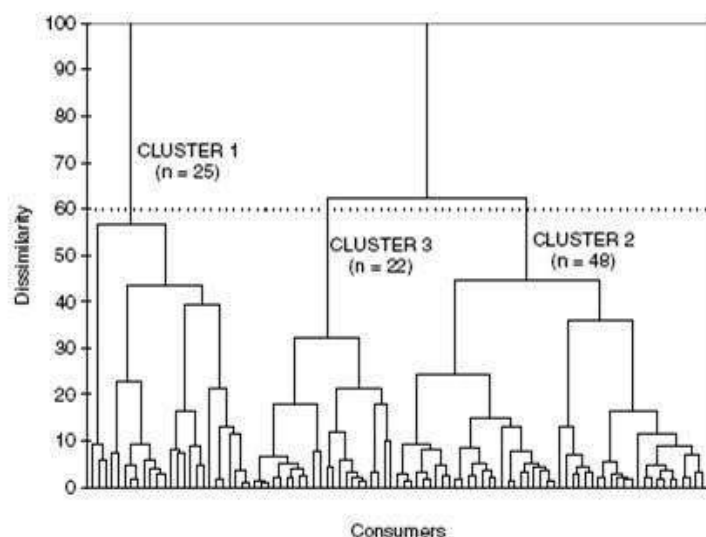


Figure 3. Consumers Segmentation. Dendrogram obtained from the Hierarchical cluster analysis of acceptability data.

For each sample, the acceptability data of each subgroup of consumers followed a normal distribution ($p > 0.05$). Consequently, for each subgroup, the effect of cocoa origin, roasting time and conching time was studied with a three way ANOVA and, as a result, differences in acceptability for the three groups were found (Table 5).

Table 5. Three-way analysis of variance with interactions for overall acceptability data from clusters.

Factors	Overall acceptability					
	Cluster 1 (n=25)		Cluster 2 (n=48)		Cluster 3 (n=22)	
	<i>F-ratio</i>	<i>P-value</i>	<i>F-ratio</i>	<i>P-value</i>	<i>F-ratio</i>	<i>P-value</i>
Origin	10.577	0.001	18.611	< 0.0001	0.010	0.920
Roasting	3.783	0.024	25.048	< 0.0001	1.002	0.369
Conching	0.053	0.818	0.020	0.889	0.643	0.423
Origin*Roasting	5.990	0.003	29.152	< 0.0001	0.485	0.616
Origin*Conching	0.549	0.459	1.830	0.177	1.698	0.194
Roasting*Conching	1.778	0.171	0.036	0.965	6.723	0.001
Origin*Roasting*Conching	0.234	0.791	1.600	0.203	3.332	0.037

Figure 4 showed variation in chocolate acceptability values for each subgroup of consumers.

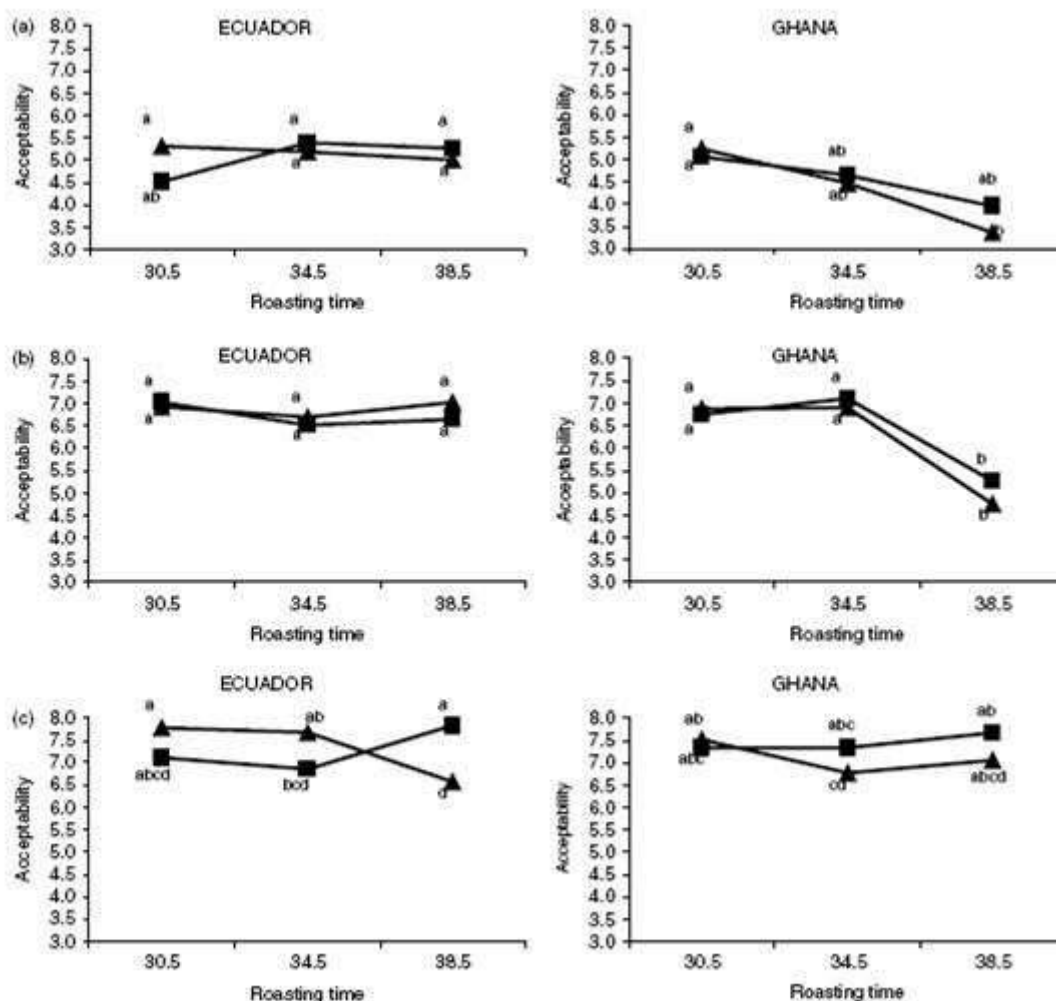


Figure 4. Effect of cocoa origin, roasting time and conching time on chocolate acceptability for cluster 1 (a), cluster 2 (b) and cluster 3 (c). Conching time: 24 hours (■) and 42 hours (▲). For each cluster, significant differences among values are indicated by letters: values not sharing letters differ significantly ($p < 0.05$).

The subgroup of consumers in cluster 1 was formed by at least 80% people who were not habitual consumers of dark chocolate (a few times a month or never) and, in general, they gave low scores to chocolates, values ranging from 3.3 to 5.4 (<“rather like or dislike”). Even if they did not like dark chocolate samples very much, the differences in acceptability among samples for this cluster followed the same trend as the second subgroup of consumers (cluster 2) that was the biggest group of participants. It was formed by consumers that consumed dark chocolate daily or weekly (55%) and occasionally (39%). For these two subgroups (cluster 1 and 2), differences in acceptability among samples corresponded to the interaction effect

between roasting time and cocoa origin. No differences in acceptability were found among Ecuadorian samples, and Ghanaian chocolates made with cocoa beans roasted for more than 35 minutes were those with the lowest scores (Figure 4). The third subgroup of consumers (cluster 3) was formed by common consumers of dark chocolate, who ate dark chocolate daily or weekly (46%) and occasionally (54%). In general, they liked the samples, and their acceptability values varied from 6.4 to 7.7. Regarding differences in acceptability among chocolates, a completely different pattern was observed in the case of cluster 3, which was shown to depend on the ternary interaction among variables (cocoa origin, roasting and conching time) (Table 5). The effect of the roasting time was dependent on the conching time used and was different for each of the studied cocoa origins. As shown in Figure 4 for Ecuadorian chocolates, when increasing roasting time, acceptability increased for the short conching time chocolates, while decreased for the long conching time chocolates. For Ghanaian chocolates with long conching time, acceptability slightly decreased when increasing roasting time, while it did not significantly varied in chocolates with short conching time. Consumers from cluster 3 could be defined as “distinguishers” as they were the only ones whose response varied for the specific combinations of the processing factors. In general they preferred the chocolates with the combination short roasting-long conching or the combination long roasting with short conching. According to these results, we can conclude that segmentation gives additional information, which is not evident in the global results.

CONCLUSIONS

The effect of processing conditions on acceptability of chocolate depended on cocoa beans origin. For most part of consumers, chocolates acceptability only showed to significantly decrease when a long roasting time for Ghana cocoa beans were used. However, for a small group of consumers, identified as distinguishers, the most acceptable dark chocolate samples were those produced, for each of the cocoa geographical origins considered, with specific combinations of roasting time and conching time. The findings of this study showed that it is important to select the

appropriate roasting and conching conditions to produce selected chocolates from single origins with a guarantee of maximum acceptability.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Chocolates Simón Coll S.A. for providing free samples of cocoa and chocolate. To MICINN Spain (Juan de la Cierva Programme) for financing the contract of the author Tarrega.

REFERENCES

- 1 Rusconi M and Conti A, *Theobroma cacao* L., the food of the gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacol Res* **61**:5-13 (2010).
- 2 Cooper KA, Campos E, Jiménez A, Nagy K, Donovan JL and Williamson G, Rapid reverse phase-ultra performance liquid chromatography analysis of the major cocoa polyphenols and inter-relationship of their concentration in chocolate. *J Agr Food Chem* **55**:2841-2847 (2007).
- 3 Counet C, Callemien D and Collin S, Chocolate and cocoa: New sources of trans-veratrol and trans-piceid. *Food Chem* **98**:649-657 (2006).
- 4 Waterhouse A, Shirley JR and Donovan JL, Antioxidants in chocolate. *Lancet* **348**:834 (1996).
- 5 Ding E, Hutfless S, Ding X and Girotra S, Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr Metab* **3**:2 (2006).
- 6 Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Alexopoulo N, Economou E, Andreadou I and Stefanadis C, Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals. *Am J Hypertens* **18**(6):785-791 (2005).
- 7 Steinberg FM, Bearden MM and Keen CL, Cocoa and chocolate flavonoids: implication for cardiovascular health. *J Am Diet Assoc* **103**(2):215-223 (2003).
- 8 Weisburger JH, Chemopreventive effects of cocoa polyphenols on chronic diseases. *Exp Biol Med* **226**(10):891-897 (2001).
- 9 European Parliament and Council Directive 2000/36/EC (23 June 2000) relating to cocoa and chocolate products intended for human consumption. *Official Journal of the European Communities*, **43**(L197), 19.
- 10 World Cocoa Foundation. *Cocoa Market Update*. Retrieved from: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl [10 July 2010].

- 11 Afoakwa E, Chocolate production and consumption patterns, in *Chocolate science and technology*, ed. by Afoackwa E. Wiley-Blackwell, Oxford, pp. 1-11 (2010).
- 12 Redgwell RJ, Trovato V and Curti D, Cocoa bean carbohydrates: Roasting induced changes and polymer interactions. *Food Chem* **80**:511-516 (2003).
- 13 Wollgast J and Ankla E, Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res Int* **33**:423-447 (2000).
- 14 El-Deep S, Yousif E, El-Azab M and Bedeir S, Effect of roasting, conching and tempering processes on the quality characteristics of cocoa beans and chocolate. *Ann Agr Sci* **45**(2):585-602 (2000).
- 15 Cambrai A, Marcic C, Morville S, Houer P, Bindler F and Marchioni E, Differentiation of chocolates according to the cocoa's geographical origin using chemometrics. *J Agr Food Chem* **58**(3):1478-1483 (2010).
- 16 Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M and Ryan A, Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying in particle size distribution and fat content using GC–mass spectrometry and GC–olfactometry. *Food Chem* **113**(1):208-215 (2009).
- 17 Ducki S, Miralles-Garcia J, Zumbé A, Tornero A and Storey DM, Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products. *Talanta* **74**(5):1166-1174 (2008).
- 18 Frauendorfer F and Schieberle P, Changes in key aroma compounds of criollo cocoa beans during roasting. *J Agr Food Chem* **1256**(21): 10244-10251 (2008).
- 19 Nazaruddin R, Osman H, Mamot S, Wahid S and Nor A, Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted malaysian cocoa beans. *J Food Process Pres* **30**(3):280-298 (2006).

- 20 Lucisano M, Casiraghi E and Mariotti M, Influence of formulation and processing variables on ball mill refining of milk chocolate. *Eur Food Res Technol* **223**:797-802 (2006).
- 21 Afoakwa E, Paterson A, Fowler M and Vieira J, Relationships between rheological, textural and melting properties of dark chocolates as influenced by particle size distribution and composition. *Eur Food Res Technol*, **227**:1215-1223 (2008f).
- 22 Afoakwa EO, Paterson A and Fowler M, Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate - a review. *Trends Food Sci Tech* **18**(6):290-298 (2007).
- 23 Bordin A, Brandelli A, Wulf E, Carrion F, Pieta L, Venzke T and Vogt de Jong E, Development and evaluation of a laboratory scale conch for chocolate production. *Int J Food Sci Tech* **44**:616-622 (2009).
- 24 Bolenz S, Thiessenhusen T and Schäpe R, Fast conching for milk chocolate. *Eur Food Res Technol* **218**:62-67 (2003).
- 25 Bolenz S, Amtsberg K and Lipp E, New concept for fast continuous conching of milk chocolate. *Eur Food Res Technol* **220**:47-54 (2005).
- 26 Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M and Vieira J, Effects of tempering and fat crystallization behaviours on microstructure, mechanical properties and appearance in dark chocolate systems. *Journal Food Eng* **89**:128-136 (2008a).
- 27 Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M and Vieira J, Modelling tempering behaviour of dark chocolates from varying particle size distribution and fat content using response surface methodology. *Innov Food Sci Emerg Technol* **9**:527-533 (2008b).
- 28 Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M and Vieira J, Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates. *J Food Eng* **91**(4):571-581 (2009).

- 29 Costell E, Tarrega A and Bayarri S, Food acceptance: The role of consumer perception and attitudes. *Chemosens Percept* **3**(1):42-50 (2010).
- 30 Bolenz S, Thiessenhusen T and Schäpe R, Fast conching for milk chocolate. *Eur Food Res Tech* **218**:62-67 (2003).
- 31 Hough G and Sanchez R, Descriptive analysis and external preference mapping of powdered chocolate milk. *Food Qual Prefer* **9**(4):197-204 (1998).
- 32 Miquelim J, Behrens J and Caetano D, Analysis of brazilian consumer preference of filled chocolate. *Ciência Tecnol Alime* **28**(2):493-497(2008).
- 33 Soukoulis C and Tzia C, Response surface mapping of the sensory characteristics and acceptability of chocolate ice cream containing alternative sweetening agents. *J Sens Stud* **25**:50-75 (2009).
- 34 Romanchik-Cerpovicz JE, Tilmon RW and Baldree KA, Moisture Retention and Consumer Acceptability of Chocolate Bar Cookies Prepared With Okra Gum as a Fat Ingredient Substitute. *J Am Diet Assoc* **102**(9):1301-1303 (2002).
- 35 Palacios O, Badran J, Drake M, Reisner M and Moskowitz H, Consumer acceptance of cow's milk versus soy beverages: impact of ethnicity, lactose tolerance and sensory preference segmentation. *J Sens Stud* **24**(5):731-748 (2009).
- 36 Beckett ST, Cocoa bean processing, in *The science of chocolate*. ed. by Beckett ST. RSC Publishing, Cambridge, pp. 39-58 (2008).
- 37 AOAC International. Cacao beans and its products in *Official Methods of Analysis*, 16th ed. ed. by Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA (1995).
- 38 MacFie HJ, Bratchell N, Greenhoff K and Vallis LV, Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall test. *J Sens Stud* **4**:129-148 (1989).

- 39 USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Retrieved from:
http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl. (12 July 2010).
- 40 Afoakwa E, Controlling the Flow Properties of Liquid Chocolate in *Chocolate science and technology*, ed. by Afoackwa E. Wiley-Blackwell, Oxford, pp. 81-102 (2010).
- 41 Cambrai A, Marcic C, Morville S, Houer P, Bindler F and Marchioni E, Differentiation of chocolates according to the cocoa's geographical origin using chemometrics. *J Agr Food Chem* **58**(3):1478-1483 (2010).
- 42 Thompson JL, Lopetcharat K and Drake MA, Preferences for Commercial Strawberry Drinkable Yogurts Among African American, Caucasian, and Hispanic Consumers in the United States. *J Dairy Sci* **90**(11):4974-4987 (2007).
- 43 Duffy VB and Bartoshuk LM, Food acceptance and genetic variation in taste. *J Am Diet Assoc* **100**(6):647-655 (2000).
- 44 Luckow T, Sheehan V, Delahunty C and Fitzgerald G, Determining the odor and flavor characteristics of probiotic, health-promoting ingredients and the effects of repeated exposure on consumer acceptance. *J Food Sci* **70**:S53-S59(2005).
- 45 Stein LJ, Nagai H, Nakagawa M and Beauchamp GK, Effects of repeated exposure and health-related information on hedonic evaluation and acceptance of a bitter beverage. *Appetite* **40**:119-129 (2003).

CAPÍTULO 4.

DARK CHOCOLATE: INFLUENCE OF COCOA ORIGIN AND PROCESSING CONDITIONS ON SENSORY CHARACTERISTICS AND CONSUMER LIKING

M. Torres-Moreno*¹, E. Costell² and C. Blanch¹

¹ Food Science Research Group. Universitat de Vic. Sagrada Família 7, 08500 Vic,
Barcelona (Spain).

² Laboratory of Physical and Sensory properties. Instituto de Agroquímica y Tecnología
de los Alimentos, CSIC, Avda. Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia (Spain).

Journal of Sensory Studies, sometido.

RESUMEN

El chocolate es uno de los productos más consumidos a nivel mundial por sus propiedades sensoriales, y por ello, son muchos los autores que han investigado estas propiedades en distintos tipos de chocolate, como el chocolate negro, el blanco o el chocolate con leche, así como en productos a base de chocolate. Sin embargo, resulta escasa la evidencia científica que muestre información completa acerca de como las propiedades sensoriales del chocolate varían en función del origen geográfico del cacao y las condiciones del procesado del chocolate. Esta aproximación resulta de gran importancia ya que la gran mayoría de las propiedades sensoriales en el chocolate final dependen de la composición de los granos de cacao y de las condiciones de procesado de los mismos, especialmente, de los procesos del tostado y conchado. Además, las propiedades sensoriales de un producto están relacionadas con su aceptabilidad. Aunque no todas las variaciones a nivel sensorial influyen en la misma medida sobre la aceptabilidad del consumidor.

En el presente estudio se pretendió determinar el efecto de 2 orígenes geográficos de cacao (Ecuador y Ghana) y distintas condiciones de procesado, tiempo de tostado (30.5, 34.5 y 38.5 minutos) y conchado (24 y 42 horas), sobre las características sensoriales y aceptabilidad del chocolate negro. Para ello, se determinó el perfil sensorial de 12 muestras de chocolate negro mediante un panel formado por 10 catadores entrenados, y la aceptabilidad de las muestras se obtuvo a través de la evaluación hedónica por parte de 95 consumidores. Para estudiar los atributos que determinaban la aceptabilidad o rechazo de los chocolates, se utilizó una regresión por mínimos cuadrados parciales (“Partial Least Squares Regression”).

Para todos los atributos sensoriales estudiados se detectaron diferencias significativas entre las muestras de chocolate estudiadas. Para la mayor parte de los atributos, fundamentalmente los relacionados con el olor y el sabor, las diferencias encontradas

fueron debidas a la interacción entre el origen del cacao y el tiempo de tostado. Es decir, en cada atributo el efecto del tostado fue distinto para cada uno de los orígenes geográficos considerados. Los atributos que determinaron la aceptabilidad de las muestras fueron el dulzor, la granulosidad y el olor floral. Mientras que el color marrón, amargor y sabor a tostado y quemado, y los descriptores de olor a tostado, café, quemado y fruto seco, fueron los atributos que se relacionaron con una menor aceptabilidad de las muestras.

Así pues, estudios como el presente pueden ser de gran interés en el desarrollo de nuevos chocolates y productos a base de chocolate así como en la mejora y optimización de las fórmulas. Los resultados del presente estudio, pueden ayudar a explicar el porqué al consumidor le gusta más uno u otro chocolate negro de acuerdo a la intensidad de ciertos atributos sensoriales.

Abstract

The aim of this work was to obtain information about how perceptible differences among dark chocolates with different cocoa geographical origin and processing conditions affect consumer liking/disliking.

Sensory profile of twelve samples was determined using a trained panel (n = 10), and hedonic responses were obtained from a group of consumers (n = 95). For most of the studied attributes, mainly those related with odour (roasting, coffee, burnt and nut) and flavour (cocoa, coffee, burnt, nut and floral), significant differences were found due to the interaction between cocoa origin and roasting time, indicating that the effect of roasting time on each attribute was different for each cocoa origin studied. Partial least squares (PLS) regression was performed in order to establish the sensory factors driving liking/disliking for consumers. For the studied dark chocolate samples liking was driven clearly by sweetness, granularity and floral odour, and disliking was driven mainly by brown colour, bitter taste, odour attributes (burnt, roasted and coffee) and by flavour attributes (burnt and roasted).

Keywords: dark chocolate, cocoa origin, roasting, conching, sensory profile, acceptability.

1. Introduction

Chocolate is the most frequently and intensively craved food around the world (Rozin et al. 1991; Rodin 1991; Weingarten and Elston 1991). Chocolate and chocolate products worldwide are consumed for its sensory properties; especially it's uniquely flavour. The popularity of chocolate appears to be mainly due to this potential to arouse sensory pleasure and positive emotions (Macht and Dettmer 2006), although some researchers report negative emotions induced by chocolate, especially guilt (Benton et al. 1998; Müller et al. 2008; Cramer and Hartleib 2001). In recent years, in the chocolate market has been an increase in the availability of chocolates with high percentage of cocoa (70%-85% or even 99%), with single-origin cocoa beans from one country or region (Ghana, Ecuador or Venezuela), with variety of exotic ingredients (fruits, spices or liquor) or organic and fair-trade chocolates (Afoakwa 2010). The development of these products can be a good opportunity for confectionary manufacturers, whenever the products meet consumer preferences.

Although previous researchers have investigated the sensory properties of dark or milk chocolates (Thamke et al. 2009; Kennedy and Heymann 2009; Husson and Pages 2003; McEwan et al. 1989; Pages and Husson 2001), none of them have shown a complete information for explaining the variability of sensory characteristics of dark chocolates considering both the differences due to cocoa beans geographical origin and that due to chocolate processing conditions. This approach is important because most of the sensory characteristics of chocolate and chocolate products are related to cocoa beans composition and to processing conditions, especially those related to roasting and conching time and temperature (Frauendorfer and Schieberle 2008; Nazaruddin et al. 2006; Afoakwa et al. 2008).

Additional information to sensory characteristics of a product is a data related to acceptability of food products, because the sensory quality of a food product plays an important role in consumer's acceptance.

In order to ascertain the influence of sensory attributes on food acceptance, the descriptive sensory data generated by a trained panel should be related to the hedonic data obtained directly from consumers. This approach can tell us which attributes most influence consumer acceptability (drive liking and disliking) (Costell et al. 2010). However, consumers usually differ in the attention paid to sensory attributes when judging the acceptance of a product. Hence, not all the variability in perceived intensity of certain attributes by a trained panel may affect consumers' response in the same extent.

Preference mapping is a collection of multivariate techniques for illustrating the relationships between sensory and sometimes instrumental data and consumer acceptance. The two major methods are internal preference mapping (MDPREF) and external preference mapping (PREFMAP) (Greenhoff and MacFie 1994; Costell 2002; Guinard et al. 2001; Carbonell et al. 2008).

Application of Partial Least Squares regression (Wold et al. 2001) can also be a good way to model the variance of consumer acceptance data, which can be explained by variance in sensory attributes obtained by a trained panel (Childs et al. 2009; Pohjanheimo and Sandell 2009; Bayarri et al. 2011). It may be helpful to relate sensory attribute intensity data of different samples, evaluated by a trained panel, with acceptability data from consumers in order to explain why consumers accept some samples but rejects others, according to the intensity of each sensory attribute.

Taking the above into consideration, the aims of this study were: 1) to study the effect of cocoa origin and chocolate processing conditions on the sensory properties of dark chocolates; 2) obtain information about perceptible differences among dark chocolates with different cocoa origin, processing conditions and differences in consumer liking; and 3) identify sensory attributes which drive to liking or disliking of samples.

2. Materials and methods

2.1. Samples

Two groups of six dark chocolate samples with different geographical origin cocoa beans, Ecuador (E) and Ghana (G), varying in processing conditions, three roasting times (R1=30.5, R2=34.5 and R3=38.5 min) and two conching times (C1=24 and C2=42 h), were used in this study. Chocolates containing 51% (w/w) of cocoa were prepared in a chocolate factory (Chocolates Simón Coll, S.A. from Sant Sadurní d'Anoia, Barcelona, Spain) following a traditional chocolate manufacturing process as described in a previous research (Torres-Moreno et al. 2011).

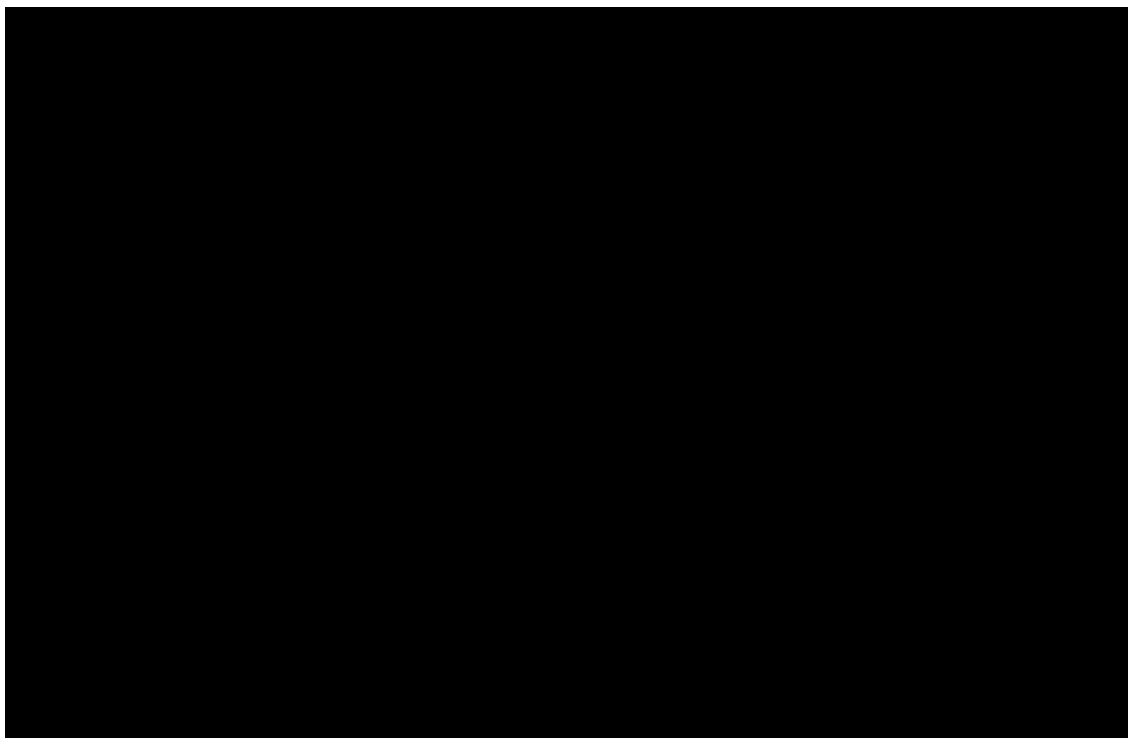
2.2. Sensory analysis

Assessors training

The list of terms was prepared with information obtained from other authors (Thompson et al. 2004; Guinard and Mazzuchelli 1999; Bolenz et al. 2003; Chu and Resurreccion 2005; Vance and Lyon 1996; Sune et al. 2002; Jinap et al. 1995). A group of 13 assessors (5 men and 8 women), with previous experience (more than 1 year) in sensory testing of differences in different products took part in the study. Assessors evaluated 24 sensory attributes pertaining to: appearance, odour, taste, flavour and texture. For each descriptor, the scoring of the perceived intensity was made on an unstructured 10 cm line with anchors “none” or “weak”, depending on the attribute, and “strong” or “intense” (Table 1).

Six sessions of 1h and 30 minutes were used to train the panelists. The two first sessions were done to discuss the descriptors selected and their definitions and to establish consensus criteria. Over the four posterior sessions, each assessor evaluated the intensity of the 24 attributes of three samples per session. At the end of each session, the assessors discussed the individual results obtained in order to establish consensus criteria for evaluation.

Table 1. Descriptors and definitions used by the trained panel to describe the sensory properties of the dark chocolates samples.



Sensory evaluation

Descriptive sensory evaluation of the 12 dark chocolates was conducted in triplicate over nine sessions and each assessor evaluated four samples per session. To reduce the influence of serving order, the order of presentation of samples to panellists was randomized across sessions but balanced across assessors within each session.

For each sample, odour attributes were evaluated first. Then, the assessors were asked to evaluate taste, flavour, and finally, textural attributes.

Chocolate test portions (10x10x5 mm) were presented on disposable plates at room temperature $22\pm 1^{\circ}\text{C}$. During sensory evaluation, mineral water and crackers were provided for mouth-rinsing.

2.3. Consumer test

A group of 95 consumers participated on the study. They were recruited by an advertisement at the university. Half of the consumers were students and university staff and the rest were contacted individually from a database of consumers unrelated with the university, who were contacted to attend the sessions. Participants ranged in age from 18 to 70 years and were 25% men and 75% women.

Overall acceptability of the twelve samples was evaluated by consumers using a 9-point hedonic scale ranging from 1 (“dislike extremely”) to 9 (“like extremely”). Each consumer participated in two sessions and evaluated six samples per session. To avoid the effect of the order of sample presentation an equilibrated Williams design was used (MacFie et al. 1989). Chocolate test portions (10x10x5 mm) were served at room temperature $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ in white plastic dishes one coded with three digit random numbers, as for the trained panel sensory evaluation.

2.4. Data analysis

Sensory descriptive data were analyzed by ANOVA, using two factors (panelist and sample) and interaction amongst them, followed by a Tukey’s honestly significant difference (HSD) test.

A three factor ANOVA with interactions was used in order to study the effect of cocoa origin, roasting time and conching time on sensory attributes of chocolates. When differences were significant, honestly significant differences were calculated using Tukey’s test. A 5% significance level ($p < 0.05$) was considered. Principal component analysis (PCA) was applied to mean sensory ratings across samples to sort out relationships among the sensory attributes and to visualise differences among samples.

The non-parametric Kruskal-Wallis analysis of variance was applied to study the effect of the sample on overall acceptability and acceptability for different attributes. Significant differences between means were established by using Dunn’s procedure ($\alpha \leq 0.05$).

Partial Least Squares Regression (PLSR) was applied (Wold et al. 2001) to model the variance of consumer acceptance data, which can be explained by variance in sensory attributes obtained by the trained panel. PLSR was performed for each of the previously identified different consumer segments.

All the statistical analyses were carried out with XLSTAT Pro software version 2011 (Addinsoft, France) and SPSS 18.0 for Windows.

3. Results and discussion

3.1. Sensory profile

For all of the twenty-four descriptive sensory attributes considered significantly differences were found when studying the effect of cocoa origin and processing conditions (Table 2).

Table 2. Mean sensory ratings on a 0-10 scale by a trained panel of 10 judges for the twelve dark chocolate samples and corresponding Tukey's honestly significant difference (HSD) at $p \leq 0.05$.

Attributes		ER1C1	ER1C2	ER2C1	ER2C2	ER3C1	ER3C2	GR1C1	GR1C2	GR2C1	GR2C2	GR3C1	GR3C2
Appearance	Brown	5.80 d	5.72 d	6.62 c	6.78 c	7.53 b	7.57 b	6.55 c	6.55 c	6.75 c	6.78 c	8.04 a	8.18 a
Odour	Chocolate	6.33 g	6.58 g	7.01 f	7.16 ef	7.53 de	7.74 cd	8.03 bc	8.16 ab	8.30 ab	8.50 a	7.66 cd	7.10 f
	Roasted	2.19 h	2.26 h	2.76 g	3.06 fg	3.46 e	3.93 d	3.38 ef	3.65 de	4.81 c	4.95 c	6.75 b	7.11 a
	Cocoa	3.86 h	4.26 g	4.46 fg	4.63 ef	4.96 de	5.19 cd	5.48 bc	5.61 ab	5.75 ab	5.95 a	5.11 d	4.55 fg
	Coffee	0.54 h	0.68 h	0.81 gh	1.01 fg	1.11 ef	1.28 def	1.33 de	1.50 d	2.03 c	2.00 c	2.60 b	2.93 a
	Burnt	0.34 fg	0.58 ef	0.64 e	0.84 de	1.01 cd	1.21 bc	0.20 g	0.26 g	0.73 de	0.83 de	1.50 ab	1.73 a
	Nutty	1.99 h	2.06 h	2.56 g	2.86 fg	3.26 e	3.73 d	3.18 ef	3.45 de	4.61 c	4.75 c	6.55 b	6.91 a
	Fruity	2.49 c	2.69 c	3.12 b	3.36 ab	3.49 a	3.16 ab	1.28 d	1.28 d	1.35 d	1.25 d	0.68 e	0.71 e
	Floral	2.36 a	2.26 a	1.43 bcd	1.59 bc	1.26 cd	1.09 d	2.28 a	2.41 a	2.15 a	1.68 b	1.25 d	1.18 d
Taste	Sweetness	7.43 a	7.49 a	6.46 b	6.43 b	6.26 b	6.23 b	7.48 a	7.48 a	6.18 b	6.28 b	5.28 c	5.08 c
	Bitter taste	3.76 e	3.66 e	3.83 e	4.19 d	4.83 c	5.29 b	4.28 d	4.75 c	4.91 c	5.01 bc	5.88 a	6.01 a
	Astringency	2.36 f	2.43 ef	2.73 e	2.69 ef	3.36 d	3.39 d	4.35 c	4.48 c	5.11 b	5.15 b	6.08 a	6.08 a
	Acidity	5.43 a	5.49 a	4.53 b	4.39 b	2.39 d	2.19 d	4.51 b	4.52 b	3.18 c	3.28 c	3.15 c	3.11 c
Flavour	Chocolate	6.04 h	6.46 g	6.68 fg	6.76 fg	7.21 de	7.34 d	7.75 bc	7.75 bc	7.98 b	8.38 a	7.48 cd	6.96 ef
	Roasted	2.49 g	2.56 g	2.93 f	3.36 e	3.76 d	4.23 c	3.71 d	3.95 cd	5.18 b	5.31 b	7.08 a	7.18 a
	Cocoa	3.46 e	3.63 de	3.96 d	3.83 d	4.46 c	4.59 c	4.98 b	5.08 ab	5.25 ab	5.38 a	4.61 c	4.55 c
	Coffee	1.29 g	1.43 fg	1.56 efg	1.76 ef	1.86 de	1.83 e	2.18 cd	2.35 c	2.88 b	2.85 b	3.45 a	3.35 a
	Burnt	0.29 d	0.42 d	0.62 cd	0.59 cd	1.16 b	1.19 b	0.34 d	0.40 d	0.87 bc	0.90 bc	1.64 a	1.74 a
	Nut	1.52 f	1.52 f	2.19 e	2.16 e	2.82 d	2.86 d	3.30 c	3.57 c	4.67 b	4.74 b	5.54 a	5.50 a
	Fruity	2.56 c	2.66 c	3.06 b	3.39 ab	3.49 a	3.16 ab	1.24 d	1.17 d	1.24 d	1.14 d	0.57 e	0.60 e
	Floral	0.86 cde	0.82 de	1.19 abc	1.12 bcd	0.46 f	0.52 ef	1.14 bcd	1.24 ab	1.44 ab	1.50 a	1.17 abc	1.10 bcd
Texture	Hardness	6.19 c	6.19 c	6.39 abc	6.29 bc	6.29 bc	6.29 bc	6.58 ab	6.55 ab	6.71 a	6.68 a	6.68 a	6.68 a
	Granularity	3.97 ab	4.00 a	3.53 c	3.53 c	3.06 d	2.99 d	3.85 abc	3.81 abc	3.51 c	3.65 bc	3.05 d	2.98 d
	Mouth coating	2.73 f	2.66 f	2.63 f	2.59 f	3.26 e	3.23 e	3.25 e	3.38 de	3.68 cd	3.81 bc	4.18 a	4.15 ab

Ratings within a column sharing letters are not significantly different.

Brown colour was significantly lower ($P < 0.05$) in the less roasted Ecuadorian samples (ER1C1 and ER1C2) than in the rest. When increasing roasting time Ghanaian samples more roasted were the most brown.

Roasted, coffee, burnt and nutty odour notes increased for both origins when increasing roasting time. Both, the Ghanaian samples were higher those attributes than the other samples in their respective categories.

Differences in chocolate and cocoa odour were perceived in the same direction, when increasing roasting time those attributes intensity increased too, except for Ghanaian samples more roasted. These samples were the Ghanaian samples with lower intensity values in those attributes.

Fruity odour was significantly lower ($P < 0.05$) in Ghanaian samples compared to Ecuadorian samples. Furthermore, when increasing roasting time the fruity odour increased for Ecuadorian samples while decreased for Ghanaian samples.

Small differences were found for floral odour, and for both origin samples, when increasing roasting time decreased the perceived floral attribute intensity.

An inverse relationship was observed between sweetness and acidity respect astringency and bitter taste. For all of the studied samples when roasting time increased sweetness and acidity decreased while astringency and bitter taste increased. No differences were observed for sweetness among samples in their respective categories, except for Ghanaian samples roasted for the longest time which were perceived as the less sweet. Acidity was perceived significantly lower ($P < 0.05$) in Ghanaian samples except for those roasted for the longest time, which were perceived less acids than Ecuadorian samples more roasted. Astringency and bitter taste were significantly lower ($P < 0.05$) in Ecuadorian samples than in the rest of samples.

Differences for all flavour attributes considered were perceived in the same sense as those identified in the odour attributes, except for burnt flavour. Burnt flavour increased for both origins when increasing roasting time, and it was significantly higher ($P < 0.05$) in Ghanaian samples more roasted than in the rest of samples.

When considering texture attributes, Ghanaian samples were higher in hardness and mouth coating than Ecuadorian samples in their respective categories. Small differences were found for granularity among the considered samples, for both origins when increasing roasting time decreased granularity.

The sensory profile was compared by principal component analysis (PCA) to study the variability in sensory attributes among the studied samples. The two first principal components (PCs), which explained 86.73% of total data variability, were considered. Figure 1 showed the loadings and scores plot for the first two principal components.

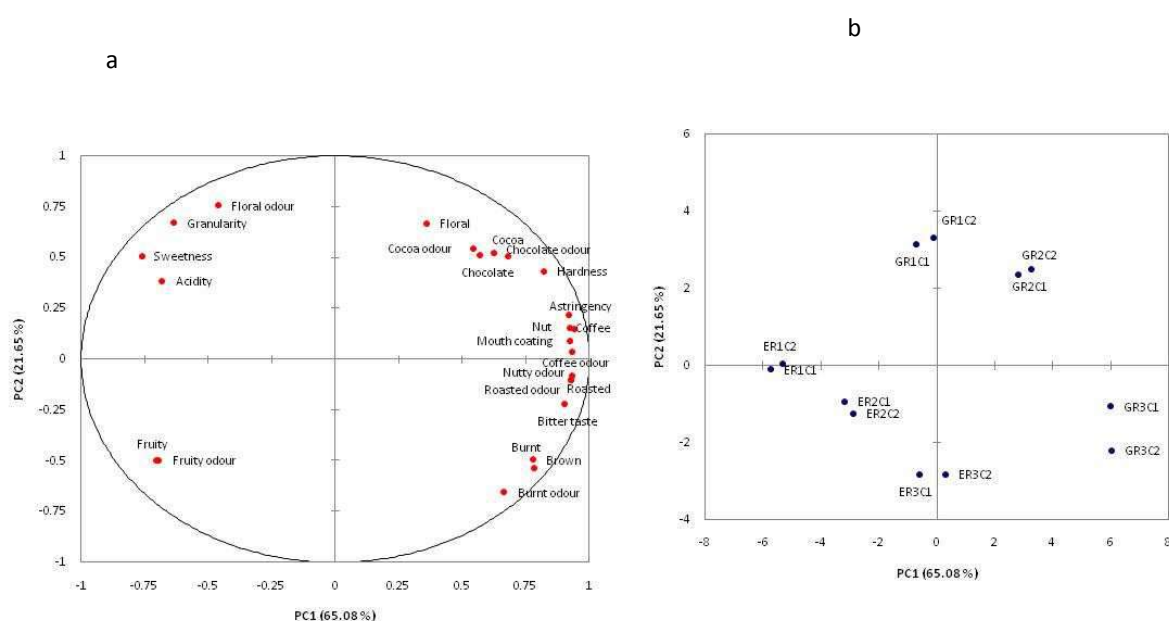


Figure 1. Principal component analysis (PCA) loadings for descriptors (a) and chocolate samples (b).

A total of 21 attributes loaded heavily on the two considered dimensions, considering those compounds with a correlation coefficient with at least one of the components (r_{PC1} or r_{PC2}) higher than 0.65 or lower than -0.65 were taken into account and the rest, chocolate odour, cocoa odour and chocolate flavour, were not considered as they did not display a clear variation. Eighteen of the sensory attributes loaded heavily with the first component while only three (floral odour and flavour, and granularity) with the second component, indicating strong correlation of these attributes with PC1 or PC2 respectively.

PC1, which explained 65.08% of variability separated samples according to roasting time and geographical origin, from Ecuadorian samples with short or medium roasting time (ER1C1-ER1C2 and ER2C1-ER2C2) in the left-hand side from Ghanaian samples with a longer roasting time (GR3C1-GR3C2) on the right-hand side. The second PC, which explained 21.65%, separated the samples also according to their origin and roasting time, with Ghanaian samples with short or medium roasting time (GR1C1-GR1C2 and GR2C1-GR2C2) in the upper quadrant and Ghanaian samples with longer roasting time (ER3C1-ER3C2) below. Those results clearly indicated that the effect of roasting time on the sensory profile of the studied dark chocolates was different for each cocoa origin studied. Ecuador samples are characterized by fruity odour and flavour attributes and for having less intensity compared to Ghanaian samples in chocolate and cocoa odour and flavour. Ghanaian chocolates produced with the short (GR1C1 and GR1C2) and medium roasting time (GR2C1 and GR2C2) are specially characterised as having floral, cocoa and chocolate odour and flavour notes. When Ghanaian samples were roasted with the longest roasting time (GR3C1 and GR3C2) were perceived as having more intense brown colour and having more intense odour and flavour notes (burnt and roasting) and bitter taste than the rest of samples.

The results also suggested that for both origins chocolates produced with the same roasting time but with different conching time are very similar, indicating that small differences were perceived among samples in the considered attributes due to the different conching time.

3.2. Influence of geographical origin and processing conditions on sensory characteristics of dark chocolates

The influence of geographical origin and processing conditions on sensory characteristics of dark chocolates is summarized in Table 3.

Table 3. Three way ANOVA with interactions for samples attributes.

Attributes		Origin (O)		Roasting time (RT)		Conching time (CT)		O*RT		O*CT		RT*CT		O*RT*CT	
		F-ratio	P-value	F-ratio	P-value	F-ratio	P-value	F-ratio	P-value	F-ratio	P-value	F-ratio	P-value	F-ratio	P-value
Appearance	Brown	121.73	< 0.0001	533.79	< 0.0001	1.43	0.235	25.16	< 0.0001	0.03	0.871	1.08	0.343	0.74	0.480
Odour	Chocolate	375.05	< 0.0001	33.69	< 0.0001	1.89	0.172	159.25	< 0.0001	9.32	0.003	6.63	0.002	7.52	0.001
	Roasted	2561.12	< 0.0001	1097.41	< 0.0001	38.94	< 0.0001	178.67	< 0.0001	0.07	0.795	3.19	0.045	1.74	0.180
	Cocoa	391.98	< 0.0001	28.51	< 0.0001	4.88	0.029	165.49	< 0.0001	16.24	0.000	9.65	0.000	8.13	0.001
	Coffee	1093.61	< 0.0001	254.77	< 0.0001	21.20	< 0.0001	40.63	< 0.0001	0.03	0.874	1.92	0.152	2.82	0.064
	Burnt	8.67	0.004	285.13	< 0.0001	24.04	< 0.0001	37.41	< 0.0001	1.31	0.254	0.43	0.654	0.75	0.474
	Nutty	2561.12	< 0.0001	1097.41	< 0.0001	38.94	< 0.0001	178.67	< 0.0001	0.07	0.795	3.19	0.045	1.74	0.180
	Fruity	2114.01	< 0.0001	22.29	< 0.0001	0.04	0.846	79.87	< 0.0001	0.51	0.476	3.49	0.034	6.48	0.002
Floral	13.53	0.000	235.03	< 0.0001	3.80	0.054	8.18	0.0005	1.37	0.245	1.42	0.246	9.94	0.000	
Taste	Sweetness	96.84	< 0.0001	579.99	< 0.0001	0.15	0.697	59.33	< 0.0001	0.15	0.697	1.37	0.259	1.06	0.348
	Bitter taste	423.47	< 0.0001	378.52	< 0.0001	31.25	< 0.0001	1.03	0.360	0.02	0.897	0.63	0.537	11.47	< 0.0001
	Astringency	3099.97	< 0.0001	325.59	< 0.0001	0.83	0.365	21.51	< 0.0001	0.15	0.697	0.52	0.594	0.15	0.859
	Acidity	114.38	< 0.0001	984.91	< 0.0001	0.57	0.451	238.54	< 0.0001	1.87	0.175	1.17	0.313	1.10	0.338
Flavour	Chocolate	521.42	< 0.0001	37.76	< 0.0001	3.94	0.050	146.69	< 0.0001	9.05	0.003	11.06	< 0.0001	12.07	< 0.0001
	Roasted	2600.75	< 0.0001	1044.16	< 0.0001	31.25	< 0.0001	154.19	< 0.0001	3.80	0.054	1.08	0.343	3.85	0.024
	Cocoa	531.23	< 0.0001	21.16	< 0.0001	1.69	0.196	119.44	< 0.0001	0.00	1.000	0.88	0.418	2.64	0.076
	Coffee	812.72	< 0.0001	119.76	< 0.0001	1.69	0.196	19.32	< 0.0001	1.08	0.301	2.25	0.111	0.83	0.440
	Burnt	41.87	< 0.0001	225.42	< 0.0001	1.79	0.184	12.08	< 0.0001	0.07	0.790	0.50	0.608	0.29	0.752
	Nut	3264.89	< 0.0001	560.88	< 0.0001	1.45	0.232	31.87	< 0.0001	1.45	0.232	1.02	0.364	1.34	0.266
	Fruity	2454.77	< 0.0001	19.95	< 0.0001	0.02	0.894	85.86	< 0.0001	0.88	0.351	3.50	0.034	8.01	0.001
Floral	109.86	< 0.0001	48.90	< 0.0001	0.07	0.790	6.51	0.002	0.29	0.594	0.07	0.931	1.14	0.322	
Texture	Hardness	74.28	< 0.0001	4.01	0.021	0.42	0.517	0.05	0.951	0.02	0.897	0.22	0.803	0.12	0.889
	Granularity	0.89	0.348	147.75	< 0.0001	0.00	1.000	2.09	0.128	0.07	0.794	0.82	0.442	0.48	0.620
	Mouth coating	434.24	< 0.0001	96.88	< 0.0001	0.15	0.697	12.29	< 0.0001	2.04	0.156	0.35	0.702	0.52	0.594

For most part of the considered sensory descriptors (14 of 24), mainly those related with odour (roasting, coffee, burnt and nut) and flavour (cocoa, coffee, burnt, nut and floral), significant differences ($p \leq 0.05$) were found due to the interaction between cocoa origin and roasting time which means that the effect of roasting time on each attribute was different for each considered cocoa origin. In general, variation of intensity in odour and flavour attributes (roasted, coffee, burnt and nut) was higher for Ghanaian samples than for Ecuadorian samples. For both origins, when roasting time increased the intensity of these attributes increased too except for the cocoa and floral flavours. For Ghanaian samples, cocoa flavour decreased for the longest roasting time and the floral flavour decreased for both cocoa origins roasted for the longest time. Also for brown colour, sweet, astringent and acid taste and for mouth coating the effect between origin and roasting time was significant. For both origins as described previously, when the roasting time increased the intensity of these attributes increased too, except for the sweet and acid tastes which decreased. The triple interaction (origin*roasting time*conching time) was significantly for 7 descriptors mainly from odour (chocolate, cocoa, fruity and floral), flavour (chocolate, roasted and fruity), and also for the bitter taste. Those results indicated that differences among samples were explained by the interaction between the three considered factors and confirmed that during conching the final odour and flavour of the chocolate change (Counet et al. 2002; Hoskin and Dimick 1983).

Finally, only for two texture descriptors (hardness and granularity) differences were due to the roasting time effect ($p \leq 0.05$) and this effect followed the same trend for both geographical origins.

3.3. Relationships between sensory characteristics and acceptability

95 consumers evaluated the acceptability of chocolate samples and results obtained are presented in Table 4.

Table 4. Mean overall acceptability values and flavour acceptability values for chocolate samples obtained with different cocoa origin and different processing conditions.

Samples characteristics			Overall acceptability
Geographical origin	Samples code		
ECUADOR	R1	C1	6.40bc
	R1	C2	6.76c
	R2	C1	6.31bc
	R2	C2	6.52bc
	R3	C1	6.50bc
	R3	C2	6.31bc
GHANA	R1	C1	6.47bc
	R1	C2	6.68bc
	R2	C1	6.46bc
	R2	C2	6.27bc
	R3	C1	5.50ab
	R3	C2	4.94a

Code of samples: roasting time (R1=30.5 minutes; R2=34.5 minutes and R3=38.5 minutes) and conching time (C1=24 hours and C2=42 hours).

Values not sharing letters within a column are significantly different ($p < 0.0001$).

As shown in Table 4, significant differences ($p \leq 0.05$) were found among samples. The use of a long roasting time lowered chocolate acceptability in Ghanaian samples while it had no effect on acceptability of Ecuadorian chocolates. Ghanaian samples with significantly lower acceptance were those roasted for more than 35 minutes with

mean acceptability scores from 5.5 for GR3C1 (remained acceptable) and 4.94 for GR3C2 (disliked slightly) while mean acceptability scores in Ecuadorian samples ranged from 6.31 to 6.76.

Once established the differences among sensory analysed samples and their differences in acceptability, as the purpose of this part of the study was to identify drivers of product liking/disliking, a PLS regression was performed.

When the PLS regression was applied to acceptability data from whole population, the two first PLS factors were sufficient to explain 87.9% of the mean liking ratings ($Q^2_{cum}=0.784$). The standard coefficients for sensory attributes obtained by PLS were considered significant when the variable importance in the projection (VIP) was greater than 0.8 (Wold et al. 2001) and only significant attributes were retained as possible drivers of liking/disliking.

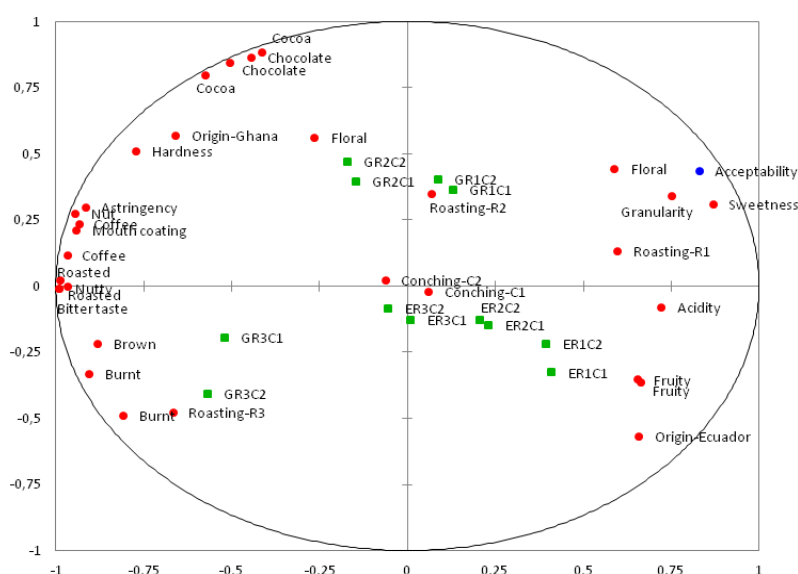


Figure 2. Relation of acceptance (overall liking) to sensory attributes and the positions of chocolate samples, using PLS regression.

As shown in Figure 2 for consumers, liking was driven clearly by sweetness, granularity and floral odour, and disliking was driven mainly by brown colour, bitter taste, odour attributes (burnt, roasted and coffee) and by flavour attributes (burnt and roasted),

attributes which appear when increasing roasting time specially in Ghanaian dark chocolates. This may indicate that cocoa roasting time longer than 35 minutes had a negative impact on the acceptability of the Ghanaian dark chocolates.

4. Conclusions

Perceptible differences were detected in appearance, taste, odour, flavour and texture attributes among the twelve dark chocolates evaluated. Differences for most part of the considered attributes were due to the interaction between cocoa beans origin and roasting time, indicating that those can be considered two of the most important factors in the chocolate manufacture when developing dark chocolates with single cocoa origin. Conching time was only determinant for some odour and flavour attributes that characterize the final properties of the chocolate.

For consumers dark chocolate liking correlated positively with sweetness, granularity and floral odour, and negatively with brown colour, bitter taste, odour attributes (burnt, roasted and coffee) and by flavour attributes (burnt and roasted). The good correlations found for these ten attributes indicate that they can be involved in the acceptance decision and they can be considered as good predictors of acceptability.

In conclusion, the findings of this study could play an important role for the chocolate manufacture in new-product development or in product improvement. According to these results, a simplified sensory descriptive method, with only ten attributes, can be used to control changes in the sensory quality of dark chocolates from different cocoa origins due to processing conditions. Furthermore, they can help to explain why a consumer accepts some samples but rejects others according to the intensity of specific sensory attributes.

Acknowledgements

To Chocolates Simón Coll S.A. for providing free samples of cocoa and chocolate.

REFERENCES

- AFOAKWA, E. (2010). Chocolate production and consumption patterns. In *Chocolate Science and Technology* (E. Afoakwa ed.) pp. 1-11, Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- BAYARRI, S., CARBONELL, I., BARRIOS, E.X. and COSTELL, E. 2011. Impact of sensory differences on consumer acceptability of Yoghurt and Yoghurt-like Products. *Int. Dairy J.* 21, 111-118.
- BAYARRI, S., MARTÍ, M., CARBONELL, I., and COSTELL, E. 2011. Identifying drivers of liking for commercial spreadable cheeses with different fat content. *J. Sensory Studies*. DOI:10.1111/J.1745-459X.2011.00362.X
- BENTON, D., GREENFIELD, K., and MORGAN, M. 1998. The development of the attitudes to chocolate questionnaire. *Person. Ind. Dif.* 24, 513-520.
- BOLENZ, S., THIESSENHUSEN, T. and SCHÄPE, R. 2003. Influence of milk components on properties and consumer acceptance of milk chocolate. *Eur. Food Res. Tech.* 216, 28-33.
- CARBONELL, L., IZQUIERDO, L., CARBONELL, I. and COSTELL, E. 2008b. Segmentation of food consumers according to sensory attributes projected on preference spaces. *Food Qual. Prefer.* 19: 71-78.
- CHILDS, J.L., YATES, M.D. and DRAKE, M. 2009. Sensory properties and consumer perception of wet and dry cheese sauces. *Food Sci.* 74(6), 205-218.
- CHU, C.A. and RESURRECCION, A.V.A. 2005. Sensory profiling and characterization of chocolate peanut spread using response surface methodology. *J. Sensory Studies.* 20, 243-274.
- COSTELL, E. 2002. A comparison of sensory methods in quality control. *Food Qual. Prefer.* 13, 345-353.
- COSTELL, E., PASTOR, M.V., IZQUIERDO, L., and DURÁN, L. 2000. Relationships between acceptability and sensory attributes of peach nectars using internal preference mapping. *Eur. Food Res. Technol.* 211, 199-204.

COSTELL, E., TARREGA, A., and BAYARRI, S. 2010. Food acceptance: the role of consumer perception and attitudes. *Chemosens. Percept.* 3, 42-50.

COUNET, C., CALLEMIEN, D., OUWERX, C. and COLLIN, S. 2002. Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of samples before and after conching. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2385-2391.

CRAMER, K. M., and HARTLEIB, M. 2001. The attitudes to chocolate questionnaire: A psychometric evaluation. *Person. Ind. Dif.* 31, 931-942.

DRAKE, S.L., LOPETCHARAT, K. and DRAKE, M.A. 2009. Comparison of two methods to explore consumer preferences for cottage cheese. *J. Dairy Sci.* 92, 5883-5897.

GREENHOFF, K. and MACFIE, H.J.H. 1994. Preference mapping in practice. In: MacFie H.J.H., Thomson, D.M.H. *Measurement of Food Preferences*. Blackie Academic & Professional, pp. 137-165.

GUINARD, J.X. and MAZZUCHELLI, R. 1999. Effects of sugar and fat on the sensory properties of milk chocolate: descriptive analysis and instrumental measurements. *J. Food Sci. Agric.* 79, 1331-1339.

GUINARD, J.X., UOTANI, B. and SCHILICH, P. 2001. Internal and external mapping of preferences for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by consumers blind versus with knowledge of brand and price. *Food Qual. Prefer.* 12, 243-255.

HOSKIN, J. and DIMICK, P. 1983. Role of nonenzymatic browning during the processing of chocolates. A review. *Process Biochem.* 11, 92-104.

HUSSON, F. and PAGÈS, J. 2003. Comparison of sensory profiles done by trained and untrained juries: methodology and results. *J. Sensory Studies.* 18(6), 453-464.

JINAP, S., DIMICK, P.S. and HOLLENDER, R. 1995. Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food Control.* 6(2), 105-110.

KENNEDY, J. and HEYMANN, H. 2009. Projective mapping and descriptive analysis of milk and dark chocolates. *J. Sensory Studies.* 24(2), 220-233.

MACFIE, H.J., BRATCHELL, N., GREENHOFF, K. and VALLIS, L.V. 1989. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in Hall Tests. *J. Sensory Studies* 4, 129–148.

MACHT, M., and DETTMER, D. 2006. Everyday mood and emotions after eating a chocolate bar or an apple. *Appetite*. 46, 332-336.

McEWAN, J.A., COLWILL, J.S. and THOMPSON, D.M.H. 1989. The application of two free-choice profiling methods to investigate the sensory characteristics of chocolate. *J. Sensory Studies*, 3, 271-286.

MÜLLER, J., DETTMER, D. and MACHT, M. 2008. The Attitudes to Chocolate Questionnaire: Psychometric properties and relationship to dimensions of eating. *Appetite*. 50, 499-505.

PAGES, J. and HUSSON, F. 2001. Inter-laboratory comparison of sensory profiles: methodology and results. *Food Qual. Prefer.*, 12, 297-309.

POHJANHEIMO, T. and SANDELL, M. 2009. Explaining liking for drinking yogurt: the role of sensory quality, food choice motives, health concern and product information. *Int. Dairy J.* 19, 459-466.

RODIN, J., MANCUSO, J., GRANGER, J. and NELBACH, E. 1991. Food cravings in relation to body mass index, restraint and estradiol levels: a repeated measures study in healthy women. *Appetite*. 17, 177–185.

ROZIN, P. 1996. The socio-cultural context of eating and food choice. In *Food choice, acceptance and consumption* (H. Meiselman and H.J.H. MacFie, eds.) pp. 83-104, Blackie, London, UK.

SUNE, F., LACROIX, P. and HUON DE KERMADEC, F. 2002. A comparison of sensory attribute use by children and experts to evaluate chocolate. *Food Qual. Prefer.* 13, 545-553.

THAMKE, I., DÜRRSCHMID, K. and ROHM, H. 2009. Sensory description of dark chocolates by consumers. *LWT - Food Sci. Tech.* 42, 534-539.

THOMPSON, J.L., DRAKE, M.A., LOPETCHARAT, K. and YATES, M.D. 2004. Preference mapping of commercial chocolate milks. *J. Food Sci.* 69(9), S406-S413.

TORRES-MORENO, M., TARREGA, A., COSTELL, E. and BLANCH, C. 2011 Dark chocolate acceptability: influence of cocoa origin and processing conditions. *J. Sci. Food Agr.* DOI 10.1002/jsfa.4592.

VANCE, G. and LYON, G.B. 1996. Aroma and flavor lexicon for sensory evaluation. In: Terms, definitions, references and examples. ASTM (American Society for testing and materials).

WEINGARTEN, H.P. and ELSTON, D. 1991. Food cravings in a college population. *APPETITE.* 17, 167–175.

WOLD, S., SJÖSTROM, M. and ERIKSSON, L. 2001. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chem. Intel. Lab. Sys.* 58,109-130.

CAPÍTULO 5.

INFLUENCE OF LABEL INFORMATION ON DARK CHOCOLATE ACCEPTABILITY

M. Torres-Moreno*¹, A. Tarrega², E. Torrecasana¹ and C. Blanch¹

¹ Food Science Research Group. Universitat de Vic. Sagrada Família 7, 08500 Vic,
Barcelona (Spain).

² Laboratory of Physical and Sensory Properties. Instituto de Agroquímica y Tecnología
de los Alimentos, CSIC. Avda. Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia (Spain).

Appetite, DOI: 10.1016/j.appet.2011.12.005.

RESUMEN

Las características sensoriales de los alimentos son factores importantes que afectan a la aceptabilidad y a la elección de los mismos. Sin embargo, los factores no sensoriales tales como la información del producto (marca, precio o ingredientes) y las actitudes y creencias del consumidor (conveniencia o propiedades saludables), entre otros, resultan también muy importantes en la aceptabilidad y la elección de los alimentos por parte de los consumidores. Por ello, en la actualidad, los factores no sensoriales son motivo de estudio y consideración para las industrias alimentarias. En el caso del chocolate, un producto consumido fundamentalmente por sus características sensoriales, resulta especialmente interesante conocer cómo la información del etiquetado puede afectar las expectativas y aceptabilidad de los consumidores, respecto a un determinado producto.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar si la información del etiquetado de chocolate negro comercial ejercía influencia sobre las expectativas del consumidor, su aceptabilidad e intención de compra. Para ello fueron evaluadas seis muestras de chocolate negro comercial, de distinta marca (marca líder y marca blanca) y características (chocolate negro, chocolate negro con cacao de origen único y chocolate negro con alto porcentaje de cacao). Un total de 109 consumidores evaluaron su aceptabilidad e intención de compra bajo 3 condiciones: *ciego* (sólo probando los productos), *expectativa* (observando la información del etiquetado de los productos) e *informado* (probando los productos observando la información del etiquetado).

En la expectativa, la aceptabilidad de los consumidores se vió afectada fundamentalmente por la marca comercial del producto. En el ciego, las diferencias en la aceptabilidad fueron debidas al tipo de producto, las muestras con un alto contenido en cacao fueron las muestras con una menor aceptabilidad. Bajo la condición del informado, la aceptabilidad de las muestras varió dependiendo tanto de la marca como del tipo de producto. Las muestras de marca líder generaron unas altas expectativas en la aceptabilidad del chocolate negro, que además coincidieron con las

características sensoriales de los chocolates. Las muestras de marca blanca en cambio, crearon unas bajas expectativas pero cuando fueron probadas resultaron tan aceptables como las de marca líder. La información en el etiquetado sobre un alto porcentaje de cacao y cacao de origen único no generó mayores expectativas que el chocolate negro regular (sin información acerca de características diferenciales sobre el producto). A los consumidores no les gustaron las características sensoriales de los chocolates con un porcentaje alto de cacao (85%), y en el caso del cacao de origen único, no fue apreciado como un elemento que pudiera mejorar la calidad sensorial del chocolate.

Estos resultados confirman por tanto, la importancia de estudiar el efecto que la información del etiquetado tiene en las expectativas de los consumidores y sobre la aceptabilidad del producto en cada caso particular, para conocer así la incidencia de dicha información sobre la respuesta del consumidor ante las nuevas características del producto.

ABSTRACT

The aim of the present work was to study how the information on product labels influences consumer expectations and their acceptance and purchase intention of dark chocolate. Six samples of dark chocolate, varying in brand (premium and store brand) and in type of product (regular dark chocolate, single cocoa origin dark chocolate and high percentage of cocoa dark chocolate), were evaluated by 109 consumers who scored their liking and purchase intention under three conditions: blind (only tasting the products), expected (observing product label information) and informed (tasting the products together with provision of the label information). In the expected condition, consumer liking was mainly affected by the brand. In the blind condition, differences in liking were due to the type of product; the samples with a high percentage of cocoa were those less preferred by consumers. Under the informed condition, liking of dark chocolates varied depending on both brand and type of product. Premium brand chocolates generated high consumer expectations of chocolate acceptability, which were fulfilled by the sensory characteristics of the products. Store brand chocolates created lower expectations, but when they were tasted they were as acceptable as premium chocolates. Claims of a high percentage of cocoa and single cocoa origin on labels did not generate higher expectations than regular dark chocolates.

Keywords: dark chocolate, origin, cocoa percentage, expectations, acceptance, consumer studies.

1. Introduction

During the development of food products, companies should make efforts to understand consumer preferences as well as their perception of sensory and non sensory characteristics of foods in order to assure product success in the market (Moskowitz & Hartmann, 2008; Tuorila & Monteleone, 2009). In this regard, several investigations in recent decades have studied consumer attitudes and perceptions to food products to elucidate which factors interact with the consumer's response (Prescott & Bell, 1995; Rozin, 1996; Bolling Johansen, Naes & Hersleth, 2010). Consumers evaluate their overall liking through their perception of the sensory characteristics of food products, and several lines of research have shown that the sensory properties of food are among the most important factors in consumer food choice. However, much research has shown that, in everyday life, consumer likes and food choices also depend on non-sensory attributes, such as information acquired about a product (brand, price or nutritional knowledge), attitudes and beliefs (such as convenience or health properties), or past experiences. For these reasons, these factors are becoming increasingly important for food companies (Shepherd, Sparks, Bellier & Raats, 1991; Jaeger, 2006; Costell, Tarrega & Bayarri, 2010).

Despite influencing consumer likes and sensory perceptions, non-sensory attributes such as information, are also likely to affect consumer sensory and hedonic expectations (Sabbe, Verbeke & Van Damme, 2009b). Expectations affect people's everyday reactions and decisions both consciously and unconsciously (Deliza & MacFie, 1996). In food science, as proposed by Olson & Dover (1979), expectations can be defined as pretrial beliefs about a product. Usually, before consumers taste a particular food product, they have an idea of what its sensory characteristics might be (sensory expectations) and how much they will like or dislike it (hedonic expectations). These expectations are created by the consumers' previous experiences with the product, by the product itself, particularly its appearance, information on the label and packaging characteristics (Varela, Ares, Giménez & Gámbaro, 2010). High expectations are likely to lead to consumer acceptance of the product, whereas low expectations will lead to product rejection (Cardello, 1994). Even though consumer expectations are

high, a food product will not be accepted if consumers do not like the flavour or any other sensory product attributes (Bech-Larsen & Scholderer, 2007; Tuorila & Cardello, 2002; Verbeke, 2006). When the product is chosen and then tasted, the expected sensory and hedonic characteristics are compared with the real ones, leading to confirmation or disconfirmation (Deliza & MacFie, 1996). A mismatch between expected and actual sensory or hedonic characteristics of the product would lead to disconfirmation, which may be positive or negative depending on whether the product is better or worse than expected, respectively (Cardello, 1994). If negative disconfirmation occurs, the consumer will probably reject the product and not buy it again (Deliza and MacFie, 1996). Conversely if positive disconfirmation occurs, the consumer will probably accept the product and repeat consumption. Therefore, product satisfaction is achieved when it matches consumer expectations. Different models have been proposed to describe how disconfirmation created by expectations may influence product acceptability. Among them, the assimilation model occurs when product evaluation (sensory or hedonic) changes in the direction of expectation while the contrast model occurs when the product evaluation changes in the opposite direction of expectation, thus increasing the discrepancy between product evaluation and expectation. Those models have been described in previous research on different types of food product (Villegas, Carbonell & Costell, 2008; Lange, Rousseau & Issanchou, 1999; Varela, Ares, Giménez & Gámbaro, 2010; Ares, Barreriro, Deliza, Giménez & Gámbaro, 2010). Therefore, the ability to establish expectations about a particular product becomes an essential strategy for the food industry in order to promote consumer sensory satisfaction (Deliza, Rosenthal & Silva, 2003).

Several studies on different products have demonstrated that information can have a large impact on consumer expectations (Villegas, Carbonell & Costell, 2008; Behrens, Villanueva & da Silva, 2007; Vidigal, Minim, Carvalho, Milagres & Gonçalves, 2011), and that brand, in particular, can be one of the non-sensory factors affecting consumer liking of products and food choice (Guinard, Bunsaku & Schlich, 2001).

In the chocolate market, other product characteristics such as a high percentage of cocoa (70%-85% or even 99%), single-origin chocolates made from beans from one country or region (Ghana, Ecuador or Venezuela) or a variety of exotic ingredients present in formulations (fruits, spices or liquor) are the strategies most often used to

attract consumers attention (Afoakwa, 2010). The development of products with such claims can present good opportunities for confectionary manufacturers, whenever the products meet consumer expectations. So far, few studies in the literature have focused on the effect of product label information on consumer expectations, acceptance or purchase intention of dark chocolates.

The aim of the present work was to study the influence of brand and type of product information on acceptance and purchase intention of dark chocolates.

2. Materials and methods

2.1. Consumer sample

One-hundred and nine subjects, all regular consumers of dark chocolate, participated in the study. They were recruited by an advertisement at the university. Half of the consumers were students and university staff and the rest were contacted individually from a database of consumers unrelated with the university, who were contacted to attend the sessions. Participants ranged in age from 18 to 70 years (33% < 30 years; 35% from 30 to 50; and 32% > 50) and were 40% men and 60% women. 35% of participants consumed chocolate less than three times per week and 65% consumed chocolate more than three times per week. Also their interest and availability to participate in the study was considered for their recruitment.

2.2. Consumer test

Six commercial dark chocolates were evaluated in the present study, considering two brands (premium and store brand) and three types of chocolate: one regular, one with a compositional claim (high percentage of cocoa) and one with an origin claim (Ecuador cocoa single origin) (Table 1). Samples were purchased from the local market and were stored at 12-15°C before testing. All the evaluations were performed within the declared shelf-life period of each sample.

Table 1. Main characteristics of commercial chocolate samples.

Sample code	Brand	Type of product	Main ingredients declared on label	Energy value ^b (kcal)	Protein ^b (g)	Fat content total ^b (g)	Saturated fat ^b (g)	Carbohydrate total ^b (g)	Sugars ^b (g)	Dietary fibre ^b (g)
P1	Premium	Regular dark chocolate	Cocoa mass, sugar, cocoa butter, emulsifier: soya lecithin, vanilla flavourings	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
P2	Premium	Ecuador cocoa dark chocolate	Cocoa mass, sugar, cocoa butter, emulsifier: soya lecithin, vanilla flavourings	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
P3	Premium	85% cocoa dark chocolate	Cocoa mass, low fat cocoa powder, cocoa butter, demerara sugar, natural Bourbon vanilla beans	530	11	46	28	19	14	ND
S1	Store-brand	Regular dark chocolate	Cocoa mass, sugar, cocoa butter, emulsifier: soya lecithin	521	7.2	30.3	19.2	50.1	46.6	ND
S2	Store-brand	Ecuador cocoa dark chocolate	Cocoa mass, sugar, cocoa butter, emulsifier: soya lecithin	528	7.5	30.6	19.6	49.8	46.6	9.8
S3	Store-brand	85% cocoa dark chocolate	Cocoa mass, sugar, cocoa butter, flavourings	586	11.1	50.1	32.4	22.8	15.0	12.3

^b As declared on label (100 g of product); ND, not declared on label.

All consumers participated in the three evaluation conditions: blind, expected and informed as explained below. In the first session, only the samples were presented (blind condition, B) to consumers so that they could evaluate their overall acceptability and purchase intention. Overall acceptability of the samples was evaluated using a nine-point hedonic scale ranging from 1 ('dislike extremely') to 9 ('like extremely') and purchase intention evaluation was made with a five-point scale ranging from 1 ('definitely would not buy') to 5 ('definitely would buy').

In the second session, one month later, participants were provided with the image of the packaging of each product that contained information about the product type (regular dark chocolate, Ecuador cocoa dark chocolate and 85% cocoa dark chocolate) and the brand (premium and store brand) (Table 1). The subjects were asked to look at the package and to rate how acceptable they expected the product would be and their

purchase intention (expected condition, E). After that, the subjects were given the packaging and the corresponding product to be tasted at the same time (informed condition, I). They rated both acceptability and purchase intention using the above mentioned scales.

Samples (portions 1cm x 1cm) were served at 15-20°C in white plastic dishes; mineral water and crackers were provided for mouth rinsing. Samples and their packaging were identified with three-digit random codes. To avoid first-position distortions and possible carry-over effects, the presentation order followed a Williams design for six samples (MacFie, Bratchell, Greenhoff & Vallis, 1989) within each of the three conditions, and they were presented monadically.

2.3. *Data analysis*

To study the effect of the brand and type of product a two way analysis of variance (brand and type of product) with interaction was carried out on liking data obtained in blind, expected and informed conditions. Significance of differences among mean values was calculated using Tukey's test. Significance was considered as 5% ($\alpha \leq 0.05$). The individual responses of consumers to each product under the blind, expected and informed condition were analyzed by the Internal Preference Mapping methodology using a PCA on the correlation matrix of consumer individual liking data (MacFie & Thompson, 1998). The results were expressed as scatter plots of samples and individual consumers in relation to the first two principal dimensions. From purchase intention evaluation, the percentage of consumers rating the samples in each one of the five points of the scale was obtained (1=definitively would not buy; 2=probably would not buy; 3=might buy; 4=probably would buy and 5=definitively would buy). Student's t tests ($p \leq 0.05$) were carried out to detect differences between expected and blind conditions (E - B), between informed and blind (I - B) and between informed and expected (I - E) conditions. All the analyses were performed using XLSTAT-Pro Version 2010 software (Addinsoft, Paris, France).

3. Results and discussion

3.1. Overall liking and purchase intention of dark chocolate samples

Expected condition

Expected liking scores ranged from 5.16 to 6.87 (Table 2).

Table 2. Overall acceptability mean values (n = 109) of chocolate samples evaluated under blind, expected and informed conditions by consumers.

Sample code	Brand	Type of product	Evaluation condition		
			Expected (E)	Blind (B)	Informed (I)
P1	Premium	Regular dark chocolate	6.87 ^a	6.78 ^a	7.12 ^a
P2	Premium	Ecuador cocoa dark chocolate	6.59 ^a	6.87 ^a	7.05 ^a
P3	Premium	85% cocoa dark chocolate	6.46 ^a	4.06 ^b	4.37 ^c
S1	Store-brand	Regular dark chocolate	5.19 ^b	6.59 ^a	6.45 ^{ab}
S2	Store-brand	Ecuador cocoa dark chocolate	5.16 ^b	6.61 ^a	6.14 ^b
S3	Store-brand	85% cocoa dark chocolate	5.48 ^b	3.83 ^b	3.86 ^c

^a Means in the same column with different letters are significantly different ($\alpha = 0.05$).

According to the results of the ANOVA only the knowledge of the brand had a significant effect on consumers expected liking scores (Table 3).

Table 3. Two-way analysis of variance with interactions for acceptability data under blind, expected and informed conditions.

Factors	Acceptability					
	Expected condition		Blind condition		Informed condition	
	F-ratio	p-value	F-ratio	p-value	F-ratio	p-value
Brand	89.070	< 0.0001	2.954	0.086	25.047	< 0.0001
Type of product	0.394	0.675	185.992	< 0.0001	153.624	< 0.0001
Brand*Type of product	1.993	0.137	0.025	0.975	0.714	0.490

Consumers' highest hedonic expectations were found for premium brand products (Table 2). Information about the type of product (regular, 85% cocoa and Ecuadorian cocoa origin) did not significantly affect consumer hedonic expectations. These results confirmed the importance of the brand in generating hedonic expectations among consumers, as previously observed by Varela et al. (2010) and Guinard et al. (2001)

who studied the effect of brand information on acceptability of powdered beverages and in lager beers, respectively.

Expected purchase intention scores were also mainly affected by the chocolate brand. The percentage of consumers indicating that they would probably or definitively purchase the sample was considerably higher for premium brand samples (53-63%) than for the store brand samples (20-32%).

An internal preference map of consumer expected liking scores is shown in figure 1.

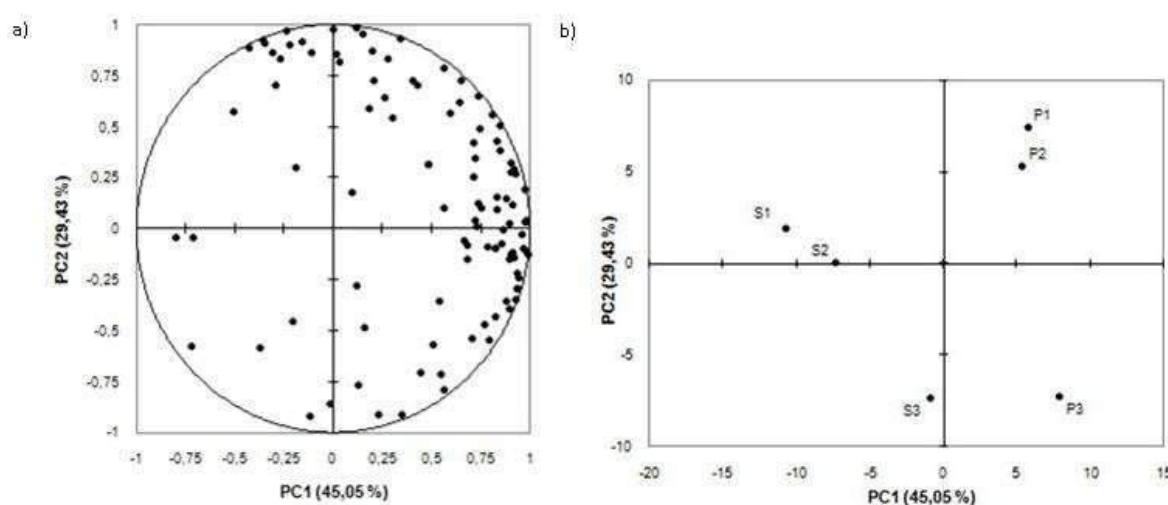


Figure 1. Internal preference map of consumers' expected liking scores of the chocolates evaluated: (a) consumers' representation and (b) samples' representation. Samples identification: P = premium brand; S = store brand; 1 = regular dark chocolate; 2 = Ecuador cocoa dark chocolate and 3 = 85% cocoa dark chocolate.

The first two principal components (PC) explained 74.49% of the variability of the experimental data. PC1 clearly separated samples according to brand (premium samples on the right of PC1), while PC2 separated samples with a claim on the label of 85% cocoa (samples with 85% of cocoa on the bottom of PC2). Consumers were distributed throughout a semi-circle (Figure 1), revealing heterogeneity in consumer expected preferences. A large group of consumers, represented on the right-hand side of PC1, preferred samples from the premium brand, whereas only a few consumers preferred store brand samples (located on the left-hand side of PC1). PC2 showed interesting information about the responses of consumers to the type of product, especially to label information about high cocoa percentage. Considering only the average values, no differences were observed due to the information about

percentage of cocoa. However, a plot of the scores divided consumers into three groups with different responses to information about percentage of cocoa: consumers located at the bottom gave higher scores to samples where the label claimed 85% cocoa than to samples without this information, while those on the top gave lower scores when the label included information on 85% cocoa. For those located in the middle the 85% cocoa claim did not affect their expected liking scores so much.

Blind condition

Under the blind condition, liking scores varied greatly between samples, with values ranging from 3.83 to 6.87 (Table 2) suggesting that consumer response to the sensory characteristics of the chocolates was very different among samples. Here, scoring ranges were wider and values lower than the liking scores obtained under the expected condition. In this case, brand had no significant effect on acceptability, whereas the type of product was found to be significant (Table 3). For both brands, differences were due to the type of product (Table 3). As shown in table 2 for both brands, the chocolates with 85% cocoa were those least acceptable to consumers (slightly and moderately disliked on a 9-point hedonic scale).

Regarding purchase intention based on the sensory properties of the chocolates more than 65% of consumers would not purchase samples with 85% cocoa (P3 and S3) while around 50% of consumers indicated that they probably or definitively would purchase regular and Ecuadorian samples from both brands.

An internal preference map of consumer overall liking scores for the blind condition is shown in figure 2. The first two principal components (PC) explained 79.9% of the variability of the experimental data. Under this condition, samples were separated in a different manner to that described for the expected condition above. The first PC clearly separates samples according to the type of product (samples with 85% cocoa on the left and the others on the right). Most of the participants (located to the right-hand side of PC1) preferred “regular dark chocolates” and “Ecuadorian dark chocolates”, whereas a small group of consumers preferred “dark chocolates with high percentage cocoa” (observed on the left-hand side of PC1). Samples appeared to be clearly separated along PC2 according to the brand (premium samples on the top).

However this component only explained 11.2% of total variability and most consumers are located in the middle of the plot, showing small differences in preference among samples of different brands. These results agreed with the non-significant effect found for brand when evaluating mean acceptance values.

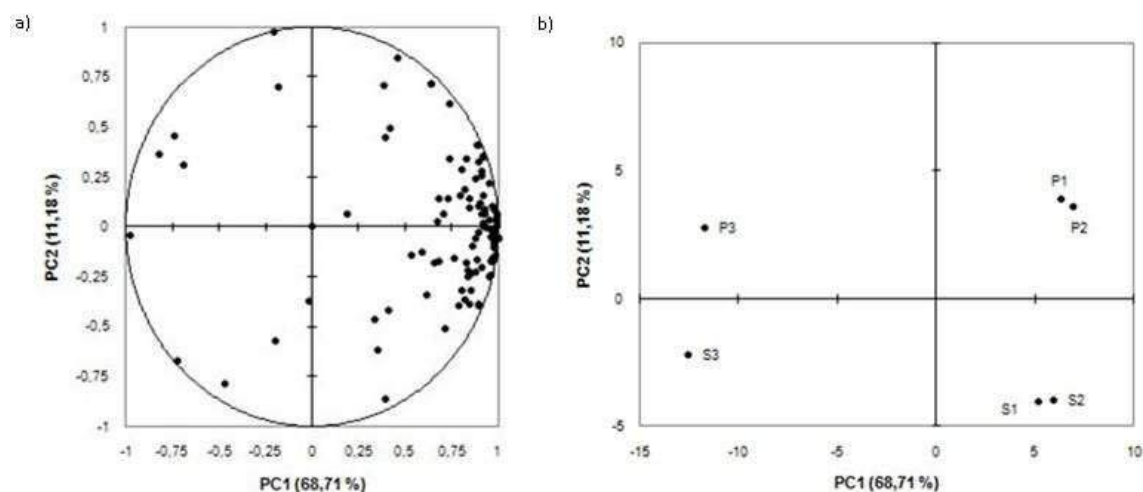


Figure 2. Internal preference map of consumers' blind liking scores of the chocolates evaluated: (a) consumers' representation and (b) samples' representation. Samples identification: P = premium brand; S = store brand; 1 = regular dark chocolate; 2 = Ecuador cocoa dark chocolate and 3 = 85% cocoa dark chocolate.

Informed condition

Overall, informed liking scores ranged from 3.86 to 7.12 (Table 2). The differences among the samples in this tasting condition were more pronounced than those found in the blind condition. In this case, both brand and type of product significantly affected overall liking (Table 3). Premium brand chocolates were preferred to store brand chocolates by consumers and samples with 85% cocoa claimed on the label were significantly less preferred (Table 2).

Purchase intention scores followed the same trend as those obtained for the overall liking. More than 65% of consumers indicated that they would probably or definitively not purchase the samples with 85% cocoa (P3 and S3). Regarding the regular and Ecuadorian cocoa chocolates, the percentage of consumers indicating that they would probably or definitively purchase this type of chocolate was more than 65% for the premium brand (P1 and P2) and 40% for the store brand (S1 and S2).

An internal preference map of consumer overall liking scores for the informed condition is shown in figure 3.

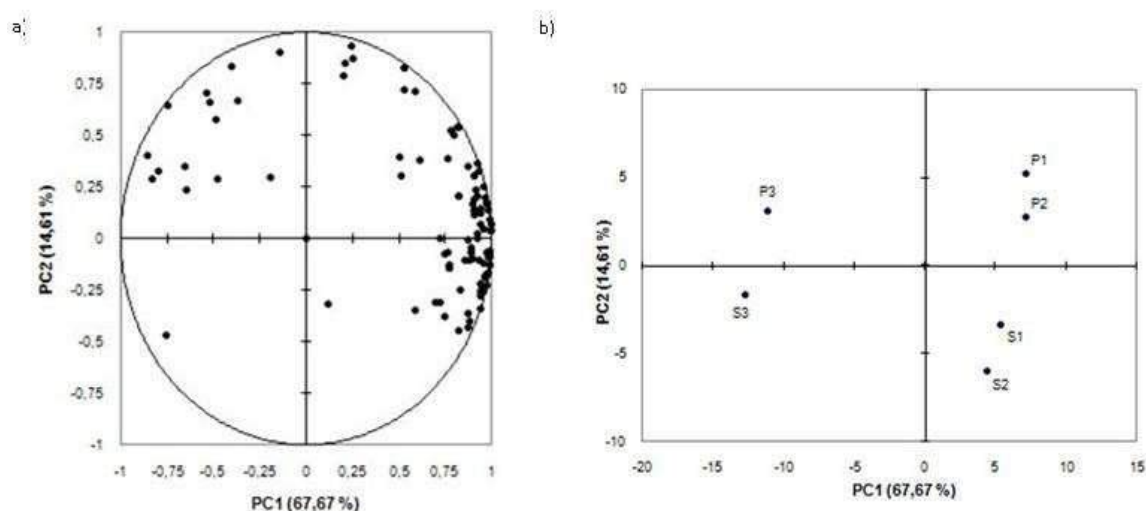


Figure 3. Internal preference map of consumers' informed liking scores of the chocolates evaluated: (a) consumers' representation and (b) samples' representation. Samples identification: P = premium brand; S = store brand; 1 = regular dark chocolate; 2 = Ecuador cocoa dark chocolate and 3 = 85% cocoa dark chocolate.

The first two principal components (PC) explained 82.27% of the variability in the experimental data. The first PC clearly separated samples according to type of product (samples with 85% cocoa on the left and the remaining products on the right), while the second PC separates samples according to brand (premium samples on the top).

Most consumers were located to the right-hand side of PC1 in figure 3, showing that they disliked chocolate types with a high percentage of cocoa. A group of consumers that liked a high percentage of cocoa, but who disliked store brand chocolates are represented on the top, left-hand side of figure 3. This preference plot is quite different from that generated from the blind session scores, showing the impact of information on consumer liking values.

3.2. Comparison between expected, blind and informed liking scores

The extent to which sample overall liking is influenced by the expectations generated by information is usually studied by comparing average scores of each sample in the blind (B), expected (E) and informed conditions (I). For each sample, expected minus

blind scores (E-B) and informed minus blind scores (I-B) were calculated and a paired t test was carried out to test significant differences between the mean ratings of the two conditions studied for each sample (Table 4).

Table 4. Differences between mean acceptability values in blind (B), expected (E) and informed (I) condition tested through paired t test (n=109).

Sample code	Brand	Type of product	E - B		I - B	
			M	p	M	p
P1	Premium	Regular dark chocolate	0.09	0.66	0.34	0.11
P2	Premium	Ecuador cocoa dark chocolate	-0.28	0.18	0.17	0.36
P3	Premium	85% cocoa dark chocolate	2.39	<0.0001	0.30	0.30
S1	Store-brand	Regular dark chocolate	-1.39	<0.0001	-0.14	0.49
S2	Store-brand	Ecuador cocoa dark chocolate	-1.44	<0.0001	-0.47	0.04
S3	Store-brand	85% cocoa dark chocolate	1.65	<0.0001	0.03	0.89

Samples P1 and P2 showed no differences between expected and blind scores. Thus, expectations consumers had about these products fitted their sensory evaluations. For the remaining samples (P3, S1, S2 and S3), blind scores and expected liking scores were significantly different, indicating disconfirmation (mismatch between expectations and sensory evaluation). The two samples with high percentages of cocoa (P3 and S3) from both brands showed the largest differences between expected liking scores and blind scores. Differences in these samples were positive (E>B), indicating negative disconfirmation. Consumers expected these samples whose label claimed a high percentage of cocoa based to be better than when they were evaluated without information (blind condition).

For store brand samples S1 and S2, differences were negative (E<B), indicating positive disconfirmation. Under the expected condition consumers expected these products to be worse than when they were tasted in the blind condition.

From all of the studied samples, only in the case of sample S2 did informed liking scores differ significantly from blind ones, indicating that information affected informed acceptability scores. In such cases, two patterns can occur: $(I-B)/(E-B) < 0$

revealing a contrast effect or $(I-B)/(E-B) > 0$ indicating an assimilation effect. In this case, the quotient $(I-B)/(E-B)$ was higher than zero, indicating that this effect could be explained by the assimilation model. In cases where assimilation was detected, informed minus expected scores ($I-E$) were calculated to determine if complete product information assimilation had occurred, which would mean that consumer responses were determined mostly by the information provided by the product label and not by the sensory characteristics of the chocolates. In this case, the difference was significant ($M = 0.98$; $p < 0.001$) so assimilation was not complete (the expectancy was significantly higher than the informed acceptability), indicating that both the sensory hedonic dimension and the product information had an evident impact on the informed score.

In summary, the present study identified three types of information and its effects on product acceptability. In the case of dark chocolates with claims of a high cocoa percentage negative disconfirmation ($E > B$) was observed. Although the expected scores were high for these samples, when consumers tasted the products, the scores drastically decreased and remained low in the informed condition. Therefore, consumers could be initially interested in the product, but would purchase it only once because its sensory characteristics do not fulfill their expectations and because the claim of the high percentage of cocoa is not important enough to compensate the lack of sensory characteristics. This result also indicated that the preconceptions that the consumers had about chocolates claiming a high percentage of cocoa on the label did not correspond to the sensory characteristics of the product. This could be either because consumers did not pay attention to packaging information or because they were not aware of the sensory characteristics of dark chocolate with such a high cocoa percentage.

For samples from the premium brand (P1 and P2) there were no differences in liking scores between conditions, indicating that consumers clearly knew how much they would like these two products. Consumers had high expectations for these products, which were fulfilled on tasting them. In this case, consumers would initially be attracted to purchasing the product and then they would confirm their acceptance of it by repurchasing.

In the case of store brand samples (S1 and S2), positive disconfirmation ($E < B$) was observed. Despite the low expectations, in blind conditions the samples were considered to be as acceptable as the premium brand chocolates. Similar results were obtained by Di Monaco et al. (2004) when evaluating the effect of expectations generated by brand name on the acceptability of dried semolina pasta (spaghetti). They found that store brand pasta generated the lowest expectations, but when consumers tasted the product it moved from the lowest liking group to the highest one. Thus, in the first instance, consumers would not be interested in buying these types of products, but if for any reason they tasted it, they would probably become more interested in it, considering that store brands usually offer lower prices. The response of consumers to the brands can also be explained in terms of consumer preferences for the quality guarantee that a familiar brand name or a premium brand brings, rather than the risks associated with buying from an unknown manufacturer brand or store brand (Baltas, 1997).

Regarding chocolates with claims of a single origin, consumers behaved as they did for the regular chocolates in the case of the premium brand, indicating that consumers did not give much importance to the origin of the chocolate and also did not consider that the product could be better. Furthermore, acceptance of both store brand and single origin products negatively affected expected and informed liking scores with respect to the blind condition. Claims on product labels about the geographical origin of chocolates have been shown to be a distinctive characteristic of high quality products. However, the results presented here indicate that consumers in this study did not perceive the claim about geographical origin as a positive feature for dark chocolate. This could be because this concept is quite new in the market and most consumers may not be familiar with this kind of information and with its impact on sensory properties.

From our results it can be concluded that consumers gave more importance to the sensory properties of the chocolates than to the label information, which could not counteract hedonic liking based on sensory experience. However, in studies with other types of products, such as soymilk beverages (Villegas, Carbonell & Costell, 2008) and powdered drinks (Varela, Ares, Giménez & Gámbaro, 2010), a complete assimilation effect was observed for information such as brand or type of product, indicating that

consumer liking scores were dictated by their expectations. The differences in our results could be due to the different motivations that consumers have when consuming these types of products. Unlike soymilk and powdered beverages, chocolate is a craving product consumed mostly for pleasure, so consumer liking scores are strongly based on what they perceive when tasting it and hardly affected by information.

4. Conclusions

The methodology used in this study proved valuable to gain insight into how claims on the label affect consumer expectations and acceptability of dark chocolate. The results obtained showed that acceptance for dark chocolates depended not only on the expectations generated by the information, brand and type of product, but mostly on the sensory characteristics of the products. Brand was an important factor in the consumer response to a chocolate product. For the premium brand dark chocolates, expectations were high and fulfilled by sensory characteristics of the products. Expectations were lower for store brand dark chocolates, but its sensory properties were good enough to minimize the negative effect of store brand information on acceptability. Claims about a high percentage of cocoa and single origin did not create higher expectations in these consumers compared to regular dark chocolates. Consumers did not like the sensory characteristics of chocolates with such a high percentage of cocoa (85%), and Ecuadorian origin was not appreciated by consumers as a feature that improves the sensory quality of dark chocolates.

These results confirm the importance of studying the effect of information on consumers' expectations and product acceptability in each particular case in order to understand consumer response to a new product feature. This methodology is a realistic approach, taking into account how much consumers like the sensory properties of a product and the preconception or knowledge consumers have about the sensory characteristics of a new feature.

Acknowledgements

To MICINN of Spain (Juan de la Cierva Programme) for financing the contract of the author Tarrega.

References

- Afoakwa, E. (2010). Chocolate production and consumption patterns. In E. Afoackwa (Ed.). *Chocolate Science and Technology* (pp. 1-11). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R., Giménez, G., & Gámbaro, A. (2010). Consumer expectations and perception of chocolate milk desserts enriched with antioxidants. *Journal of Sensory Studies*, 25, 243-260.
- Baltas, G. (1997). Determinants of store brand choice: a behavioral analysis. *Journal of Product and Brand Management*, 6 (5), 315-324.
- Bech-Larsen, T., & Scholderer, J. (2007). Functional foods in Europe. Consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 231-234.
- Behrens, J.H., Villanueva, N.D.M., & da Silva, M.A.A.P. (2007). Effect of nutrition and health claims on the acceptability of soymilk beverages. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 50-56.
- Bolling Johansen, S., Naes, T., & Hersleth, M. (2010). Motivation for choice and healthiness perception of calorie-reduced dairy products. A cross-cultural study. *Appetite*, 56, 15-24.
- Cardello, A.V. (1994). Consumer expectations and their role in food acceptance. In H.J.H. MacFie, & D.M.H. Thomson (Eds.), *Measurement of food preferences* (pp. 253-297). London: Blackie Academic & Professional.
- Costell, E., Tarrega, A., & Bayarri, S. (2010). Food acceptance: The role of consumer perception and attitudes. *Chemosensory Perception*, 3 (1), 42-50.
- Deliza, R., & MacFie, H. J. H. (1996). The generation of sensory expectation by external cues and its effect on sensory perception and hedonic ratings: A review. *Journal of Sensory Studies*, 11, 103-128

- Deliza, R., Rosenthal, A., & Silva, A.L.S. (2003). Consumer attitude towards information on non conventional technology. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 43-49.
- Di Monaco, R., Cavella, S., Di Marzo, S., & Masi, P. (2004). The effect of expectations generated by brand name on the acceptability of dried semolina pasta. *Food Quality and Preference*, 15, 429-437.
- Guinard, J.X., Bunsaku, U., & Schlich, P. (2001). Internal and external mapping of preferences for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by consumers blind versus with knowledge of brand and price. *Food quality and preference*, 12, 243-255.
- Jaeger, S. R. (2006). Non-sensory factors in sensory science research. *Food Quality and Preference*, 17, 132-144.
- Lange, C., Rousseau, F. & Issanchou, S. (1999). Expectation, liking and purchase behavior under economical constraint. *Food Quality and Preference*, 10, 31-39.
- MacFie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K. & Vallis, L.V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall test. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.
- MacFie, H.J. & Thompson, D.M.H. (1998). Preference mapping and multidimensional scaling. In J.R. Pigott (Ed.), *Sensory analysis of food* (pp. 381-409). New York: Elsevier.
- Moskowitz, H., & Hartmann, J. (2008). Consumer research: creating a solid base for innovative strategies. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 581-589.
- Olson, J. C., & Dover, P. A. (1979). Disconfirmation of consumer expectations through product trial. *Journal of Applied Psychology*, 64, 179-189.
- Prescott, J., & Bell, G.A. (1995). Cross-cultural determinants of food acceptability: recent research on sensory perceptions and preferences. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 201-205.

- Rozin, P. (1996). The socio-cultural context of eating and food choice. In H. Meiselman, & H.J.H. MacFie (Eds.), *Food choice, acceptance and consumption* (pp. 83-104). London: Blackie.
- Sabbe, S., Verbeke, W., & Van Damme, P. (2009b). Confirmation/disconfirmation of consumers' expectations of fresh and processed tropical fruit products. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 539-551.
- Sheperd, R., Sparks, P., Bellier, S., & Raats, M.M. (1991/2). The effects of information on sensory ratings and preferences: the importance of attitudes. *Food quality and Preference*, 3, 147-155.
- Tuorila, H., & Cardello, A.V. (2002). Consumer responses to an off-flavour in juice in the presence of specific health claims. *Food Quality and Preference*, 13, 561-569.
- Tuorila, H., & Monteleone, E. (2009). Sensory food science in the changing society: Opportunities needs and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 54-62.
- Varela, P., Ares, G., Giménez, A., & Gámbaro, A. (2010). Influence of brand information on consumers' expectations and liking of powdered drinks in central location tests. *Food quality and preference*, 21, 873-880.
- Verbeke, W. (2006). Functional foods. Consumer willingness to compromise on taste for health? *Food Quality and Preference*, 17, 126-131.
- Vidigal, M.C.T.R., Minim, V.P.R., Carvalho, N.B., Milagres, M.P, & Gonçalves, A.C.A. (2011). Effect of health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açai (*Euterpe oleracea* Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). *Food Research International*, in press.
- Villegas, B., Carbonell, I., & Costell, E. (2008). Effects of product information and consumer attitudes on responses to milk and soybean vanilla beverages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2426-2434.

I. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En el transcurso de la elaboración de esta tesis se ha recopilado la información existente referente a las propiedades físico-químicas y sensoriales del cacao y el chocolate, así como sus factores determinantes, pero además se ha contribuido a: a) aumentar el conocimiento acerca del efecto que tienen el origen del cacao y las condiciones de procesado sobre las características físico-químicas y sensoriales del chocolate, y b) dilucidar cómo la información del etiquetado del chocolate negro puede influir en las expectativas y la aceptabilidad de los consumidores.

Las principales aportaciones derivadas de esta tesis se exponen a continuación en tres apartados, definidos en función de si los resultados obtenidos hacen referencia a: a) las características físico-químicas del chocolate, b) las características sensoriales y la aceptabilidad de los chocolates y c) al efecto que tiene la información del etiquetado sobre las expectativas y aceptabilidad de los consumidores.

1. Características físico-químicas del chocolate

En esta primera parte de la tesis se pretendió estudiar las características físico-químicas del chocolate y el efecto que el origen del cacao y las condiciones de procesado podían tener sobre las mismas.

Como se ha comentado con anterioridad, el chocolate es el producto obtenido del cacao cuyos ingredientes básicos son los sólidos del cacao, la manteca de cacao, el azúcar y la lecitina, que actúa como emulgente. Sus propiedades físico-químicas dependen principalmente de las características particulares de algunos de estos ingredientes, especialmente del contenido en manteca de cacao, de las características de los AG de la misma, de la concentración de otros ingredientes como el azúcar y de las posibles interacciones entre ellos.

Al estudiar la composición centesimal del cacao se confirmaron los datos obtenidos por otros estudios similares, como el de Liendo y colaboradores (1997), demostrando

que el nutriente mayoritario del cacao es la grasa, y que su composición nutricional depende fundamentalmente del origen geográfico.

Tras analizar la composición nutricional del chocolate se pudo confirmar que era un producto de elevada densidad energética y nutricional, destacando especialmente su contenido en hidratos de carbono y lípidos, coincidentes con los datos de la bibliografía (USDA 2010). Se pudo corroborar además, que su composición nutricional en azúcares y grasa dependía especialmente del origen geográfico del cacao y no de las condiciones de procesado.

Al estudiar el perfil de ácidos grasos, se observó que los ácidos grasos C16:0, C18:0, C18:1 y C18:2 eran los ácidos grasos mayoritarios tanto en el cacao como en el chocolate, confirmado de nuevo los resultados obtenidos por otros autores (Liendo *et al.* 1997; Rezanka y Rezankova 1999; Lipp *et al.* 2001).

Por su riqueza en ácido palmítico y esteárico, ácidos grasos saturados cuyo consumo habitual, en general, se ha relacionado con un aumento del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Posiblemente ello se debe, a su capacidad en elevar las partículas LDL en plasma. El cacao, y por extensión el chocolate, han sido considerados durante mucho tiempo alimentos perjudiciales para el sistema cardiovascular. No obstante, como se ha expuesto anteriormente, el ácido esteárico es un AG saturado que no provoca la elevación plasmática de los niveles de c-LDL tal y como ocurre con otros AG saturados. Este fenómeno podría explicarse por la longitud de su cadena, la deficiente absorción y metabolismo o la posible desaturación que sufre el ácido esteárico a oleico una vez absorbido (Weisburguer 2001; Steinberg *et al.* 2003).

En la presente tesis, se puso además de manifiesto que el origen geográfico del cacao también tiene un efecto significativo sobre la composición lipídica de los chocolates, pudiéndose afirmar por tanto, que el chocolate elaborado con cacao de Ecuador tiene un perfil de ácidos grasos significativamente más saludable que el chocolate elaborado con cacao de Ghana, por su mayor contenido en AG insaturados (C18:1 y C18:2) y menor contenido en AGS. En este sentido, se demuestra por tanto, que para formular

chocolates con propiedades nutricionales más saludables es fundamental considerar el origen del cacao que se utilizará.

Sin embargo, conocer el perfil nutricional de los AG del chocolate no sólo resulta importante por sus connotaciones sobre la salud de quien lo consume. La composición en AG del chocolate determina también la estructura de los triglicéridos que forman la matriz del chocolate, influyendo así sobre algunas de sus propiedades finales como: la textura, viscosidad, fusión en boca, gusto y sabor del chocolate (Afoakwa 2010). Por tanto, el perfil de AG es un factor determinante también de la calidad final del chocolate.

En la actualidad, existen numerosas líneas de investigación centradas no sólo en el estudio de la composición química del cacao y el chocolate, sino también en el estudio de los compuestos bioactivos minoritarios presentes en el cacao como los flavonoles, flavanoles, flavonas y antocianos (Waterhouse *et al.* 1996; Wollgast y Anklam 2000; Won Lee y Jun Kim 2003). Se trata de compuestos antioxidantes de gran interés por su posible papel protector para la salud (Cook y Samman 1996; Birt y Hendrich 2001; Baba *et al.* 2001d; Won Lee y Jun Kim 2003; Zern y Fernandez 2005; Ardestani y Yazdanparast 2007; Baba *et al.* 2007a). En este sentido, resulta pues necesario en un futuro no sólo conocer la composición en estos micronutrientes sino estudiar cómo varía su contenido según el origen geográfico del cacao. Esto permitirá seleccionar aquellos cacaos que contengan una mayor cantidad de los tan apreciados flavonoides. También es preciso determinar aquellos factores del procesado del chocolate capaces de disminuir en mayor o menor medida el contenido total de estos compuestos antioxidantes.

Por último, es preciso avanzar en un futuro en el conocimiento del efecto que puede tener el consumo crónico de cacao y de chocolate sobre el desarrollo de distintas patologías relacionadas con el estrés oxidativo y los diferentes factores de riesgo cardiovascular, ya que hasta la fecha no existen suficientes estudios randomizados de larga duración que avalen los efectos beneficiosos que se le atribuyen en los numerosos estudios *in vitro* o *in vivo* de corta duración realizados.

En el marco de esta tesis en segundo lugar se estudió la composición en compuestos volátiles de los chocolates, ya que el secreto de la gran popularidad del aroma y sabor del chocolate es debido fundamentalmente a su fracción volátil, los cuales constituyen uno de los factores que influyen decisivamente sobre la calidad del producto (Afoakwa 2010).

A pesar de que el aroma del chocolate es un elemento fundamental, existen escasos estudios que analicen el efecto que tiene el origen del cacao y los diferentes factores clave del procesado del chocolate sobre la composición de compuestos volátiles del mismo (Hernández y Rutledge 1994; Afoakwa *et al.* 2008; Perego *et al.* 2004; Serra-Bonvehí 2005; Rodríguez-Campos *et al.* 2011).

En esta tesis se pudo demostrar que el olor característico del chocolate era debido a una mezcla muy compleja de compuestos volátiles que pertenecían a familias químicas de compuestos de naturaleza muy diversa. Para la mayor parte de los compuestos que se identificaron en las muestras de chocolate negro, el efecto del tiempo de tostado del cacao sobre la concentración de compuestos volátiles fue distinto para cada uno de los orígenes geográficos del mismo.

Para estudiar de forma conjunta la variabilidad en el perfil de los compuestos volátiles de las muestras se utilizó el análisis de componentes principales, siendo uno de los instrumentos de tratamiento de datos más destacables de esta investigación. La mayoría de estudios existentes hasta el momento que tratan sobre compuestos volátiles, utilizan el análisis de la varianza como método de tratamiento de los datos, con lo que simplemente se obtienen resultados respecto a si existen diferencias entre muestras, pero que no explican si las diferencias entre muestras son debidas a la variación de los distintos compuestos identificados (Plumas *et al.* 1996; Perego *et al.* 2004; Serra-Bonvehí 2005; Nazaruddin *et al.* 2006).

La metodología propuesta en este trabajo, integra todo el proceso de producción del chocolate, proporcionando resultados que tienen en cuenta el origen de los granos de cacao, el proceso de fabricación, concretamente el tostado, y el producto final, el

chocolate. De esta manera, los resultados obtenidos permitieron identificar los compuestos volátiles que aparecían o desaparecían durante el tostado de los granos de cacao para cada uno de los orígenes geográficos estudiados.

Siguiendo la línea de la presente tesis, en la actualidad existen algunas investigaciones en las que la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se combina con la olfactometría (GCO, sniffing) para identificar cuales de los compuestos que se separan en el cromatograma presentan propiedades aromáticas (Serra-Bonvehí 2005; Counet *et al.* 2002; Aceña *et al.* 2010). Esta nueva técnica en un futuro permitirá estudiar no sólo los compuestos volátiles presentes en los alimentos en general, sino cuáles de ellos tienen más impacto y contribuyen por tanto al aroma final del producto. Complementariamente a estas investigaciones sería interesante delimitar en un futuro la naturaleza de aquellos compuestos que se relacionan en mayor medida con los atributos de olor y sabor definidos sensorialmente a través del perfil sensorial descriptivo.

Para avanzar en el conocimiento en este campo, el análisis conjunto de los datos de la composición de la fracción volátil, junto con los datos provenientes de pruebas con consumidores resultarán claves para la formulación de chocolates con una mayor aceptabilidad. Las pruebas hedónicas permitirán identificar los compuestos que se relacionan en mayor medida con la aceptabilidad del producto, y las pruebas tipo “*just about right*” (JAR) permitirán evaluar la conveniencia de distintos atributos sobretodo los de olor y sabor, es decir, conocer cuándo los atributos específicos se encuentran en su nivel óptimo.

Para concluir y a la luz de los resultados experimentales obtenidos en la presente tesis, podemos afirmar que tanto el contenido total de grasa, como el perfil de ácidos grasos, y la composición en compuestos volátiles, son parámetros determinantes de las características del chocolate y que dichos parámetros pueden influir decisivamente en la calidad final del producto. Por tanto, resultan criterios clave a tener en cuenta por parte de los fabricantes a la hora de optimizar tanto la producción de chocolate como su control de calidad.

2. Características sensoriales y aceptabilidad del chocolate

En esta segunda parte de la tesis, se estudió el efecto del origen del cacao y las condiciones de procesado del chocolate sobre las características sensoriales y la aceptabilidad del chocolate por parte de los consumidores.

El chocolate es uno de los productos más consumidos a nivel mundial por sus propiedades sensoriales y por el placer que proporciona al consumirlo, sin embargo, hay pocos estudios científicos en los que se analice cómo las variaciones a nivel sensorial influyen en la aceptabilidad del consumidor. La mayor parte de trabajos sólo se centran en el estudio descriptivo de las propiedades sensoriales del chocolate, si bien, como ya es sabido el conocimiento de éstas no siempre permite predecir la aceptabilidad del producto por parte del consumidor.

En la presente tesis, para estudiar la influencia del origen del cacao y las condiciones de procesado sobre la aceptabilidad, se realizaron pruebas hedónicas con consumidores. Además, se evaluó la aceptabilidad de distintos atributos (color, olor, sabor y textura) para poder discernir cuáles de éstos atributos percibidos por los consumidores se relacionaban más con su aceptabilidad.

Tras analizar los resultados, se pudo observar que las diferencias encontradas en la aceptabilidad entre las muestras de chocolate se relacionaban fundamentalmente con las diferencias en el sabor. Resultados en principio esperables, ya que como muestran otros autores, el sabor del chocolate parece ser el factor sensorial que dicta en mayor medida las preferencias del consumidor (Afoakwa 2010).

Los resultados obtenidos en la aceptabilidad indicaron que no existía una clara diferencia en la aceptabilidad de las muestras de chocolate negro, lo cual aparentemente parecería indicar uniformidad en los criterios de preferencia de los consumidores. Sin embargo, los valores medios enmascaraban en realidad distintos patrones de preferencia y por tanto las diferencias interindividuales, como mostró el análisis de conglomerados utilizado para segmentar a la población.

Estos resultados son una aportación para futuras investigaciones, ya que demuestran que siempre que se quiera estudiar la aceptabilidad de un producto, previamente se debe analizar la aceptabilidad de los distintos grupos de consumidores que conforman la población diana. Con ello, se obtiene una información más completa sobre el grado de aceptabilidad real del producto, en comparación a considerar exclusivamente el valor medio de aceptabilidad del grupo entero.

En la población segmentada es posible estudiar si las diferencias en aceptabilidad identificadas pueden explicarse por las características demográficas, por los hábitos de consumo o por las preferencias individuales. En nuestro caso, las diferencias en la aceptabilidad de las muestras utilizadas no sólo fueron debidas a las características sensoriales de las mismas sino también a los hábitos de consumo de los encuestados y a sus preferencias individuales, pero no a los factores socio-demográficos estudiados. Con todo ello, es posible confirmar que el consumo habitual de un alimento incrementa la aceptabilidad del mismo a largo plazo (Duffy y Bartoshuck 2000; Luckow *et al.* 2005).

Así, los resultados del presente estudio contribuirán en un futuro a que las empresas chocolateras produzcan chocolates con la garantía de que su aceptabilidad sea máxima. Podemos afirmar que a la hora de producir un alimento resulta importante conocer las preferencias del público al que va dirigido y también poder seleccionar las condiciones apropiadas de procesado. En el caso del chocolate estas preferencias deberían tenerse en cuenta a la hora de seleccionar las condiciones de tostado del cacao y del conchado del chocolate para que la aceptabilidad del producto final sea máxima.

En la presente tesis también se analizaron las diferencias entre muestras en función de su perfil sensorial, así como la relación entre los atributos sensoriales y la aceptabilidad de las muestras de chocolate.

Para analizar las diferencias en los atributos de las distintas muestras se utilizó el método de perfil sensorial descriptivo. Esta metodología consiste en medir la intensidad de los distintos atributos de un producto mediante un panel de catadores entrenado específicamente para ello (Sancho *et al.* 1999). Tras analizar las diferencias entre muestras se observó que para la mayor parte de los atributos, fundamentalmente los relacionados con el olor y el sabor, el efecto del tostado fue distinto para cada uno de los orígenes geográficos de cacao considerados. Estos datos por sí solos proporcionan información limitada, ya que simplemente caracterizan a cada una de las muestras, la intensidad de cada uno de los atributos, y clarifican el efecto de cada uno de los factores estudiados (origen del cacao, tiempo de tostado y conchado).

El análisis de la relación entre los atributos sensoriales evaluados por el panel entrenado y la aceptabilidad de las muestras es un análisis complementario que resulta esencial para la industria alimentaria, ya que permite identificar y explicar los atributos que conducen a la aceptabilidad o rechazo del producto que se evalúe (Costell *et al.* 2000; Bayarri *et al.* 2011). En este caso, sólo la variación en 10 de los 24 atributos estudiados se relacionó con la aceptabilidad de los chocolates.

Por tanto, se puede concluir que este análisis conjunto de los datos del perfil sensorial descriptivo y de la aceptabilidad permite profundizar en el conocimiento del producto. En este sentido, los datos así obtenidos, por primera vez en el caso del chocolate, muestran como un perfil descriptivo simplificado con tan sólo 10 atributos podría utilizarse para controlar los cambios en la calidad sensorial del chocolate negro, elaborado con cacao de distinto origen y producido con distintos tiempos de tostado y conchado.

Esta evidencia constatada en el presente trabajo resulta de gran interés para la industria alimentaria, ya que ésta podría obtener y utilizar versiones reducidas del perfil sensorial descriptivo en el control de calidad de los productos alimentarios, como una herramienta rutinaria.

La metodología descrita puede utilizarse para relacionar no sólo la intensidad de los atributos sensoriales de las distintas muestras con los datos globales de aceptabilidad de las mismas, sino con los datos de aceptabilidad de los subgrupos de consumidores identificados con distintos criterios de aceptabilidad en la población (Costell *et al.* 2000; Bayarri *et al.* 2011). De esta manera, la información que se puede obtener resulta incluso más interesante, ya que para cada subgrupo de consumidores se podrían identificar los atributos y la intensidad de los mismos que condicionan la aceptabilidad o rechazo del producto. Datos de gran utilidad cuando se trata de productos dirigidos a sectores de mercado concreto, como por ejemplo productos para adolescentes, personas mayores o población con ciertas patologías.

Los resultados obtenidos mediante este estudio son de gran interés para la industria agroalimentaria, tanto en el desarrollo de nuevos chocolates y productos a base de chocolate como en la mejora y optimización de las fórmulas, minimizando así los riesgos de fracaso de un producto en el mercado originados por deficiencias en su calidad sensorial. Como muestran los resultados, estos pueden ayudar a explicar: a) cómo la variación en las propiedades sensoriales del producto afecta a la aceptabilidad de los consumidores y b) qué atributos sensoriales conllevan a la aceptabilidad o rechazo de los mismos.

3. Efecto de la información en las expectativas y aceptabilidad de los consumidores

En esta tercera parte de la tesis se pretendió estudiar el efecto de la información del etiquetado del chocolate negro sobre las expectativas y la aceptabilidad del mismo por parte de los consumidores.

A lo largo de las últimas décadas son numerosas las investigaciones que han tratado de dilucidar qué factores interaccionan con las actitudes y percepciones que el consumidor tiene respecto los alimentos (Prescott y Bell 1995; Rozin 1996; Bolling Johansen *et al.* 2010). En este sentido, diversos autores han demostrado que los

factores sensoriales son fundamentales en la elección de un alimento. El método clásico de evaluar la aceptabilidad de los alimentos considera que el consumidor no tiene ningún tipo de información acerca del producto y sólo lo evalúa desde el punto de vista hedónico (cuanto me gusta o me disgusta). Sin embargo, algunas líneas de investigación han demostrado recientemente, que los factores no sensoriales, tales como la marca, el precio, las propiedades saludables atribuidas al producto, entre otros, también juegan un papel trascendental en la elección de un alimento y por ello, también deben considerarse (Shepherd *et al.* 1991/2; Jaeger 2006; Costell *et al.* 2010).

Resulta importante considerar los factores no sensoriales ya que la situación en la que el consumidor no tiene ninguna información sobre el producto que evalúa, no coincide en absoluto con la situación en el mundo real, en el que la marca, el precio o las características nutricionales del producto pueden modificar la respuesta del consumidor tanto en lo referente a su aceptabilidad como en la intención de comprarlo. Por tanto, los atributos no sensoriales no tan sólo pueden afectar la aceptabilidad y la percepción sensorial, sino también las expectativas que tenga el consumidor (Sabbe *et al.* 2009b). Entendiendo como expectativas las creencias preconcebidas, de tipo sensorial o hedónico, que el consumidor tiene sobre un producto antes de probarlo.

En el caso del mercado del chocolate, las estrategias más utilizadas por las empresas chocolateras para atraer la atención del consumidor son los chocolates Premium, es decir, la diversificación de productos hacia chocolates con un alto porcentaje de cacao, chocolates elaborados con cacao de origen único o la incorporación en las fórmulas de ingredientes como los frutos secos, licores o especias (Afoakwa 2010). Sin embargo, resulta sorprendente que casi no exista evidencia en la bibliografía en la que se haya estudiado el efecto que la información del etiquetado del chocolate tiene sobre las expectativas del consumidor y la aceptabilidad del producto.

Por ello, en este trabajo nos planteamos un estudio en el que se investigara el efecto de la información del etiquetado de chocolates comerciales sobre las expectativas, la aceptabilidad y la intención de compra. Se partió de la premisa, que para llevar a cabo

este tipo de estudio era necesario realizarlo con productos conocidos, que fueran habituales en el mercado y sobre los cuales los consumidores tuviesen sus propias preferencias y percepciones, y no sobre muestras experimentales como las que hasta el momento se han estudiado en la presente tesis. Para llevar a cabo nuestra investigación se consideraron los siguientes parámetros no sensoriales: marca (líder y blanca) y tipo de chocolate negro (regular, con información de origen único y con información de porcentaje de cacao).

Los consumidores evaluaron la aceptabilidad de las muestras bajo tres condiciones: ciego, expectativa e informado, para así poder valorar el efecto de la información de las etiquetas reales de los productos.

Las respuestas obtenidas bajo las tres condiciones fueron distintas, confirmando que la marca, en el caso del chocolate negro, influía tanto en las expectativas como en la aceptabilidad y la intención de compra de los consumidores. Una marca líder, ampliamente conocida entre los consumidores de chocolate sugería que el producto que contenía era de buena calidad y que tenía unas propiedades sensoriales adecuadas incrementándose por tanto el interés por adquirirlo. En cambio, una marca blanca generó menores expectativas entre los consumidores, aunque a ciegas fue igual de aceptable que la marca líder. Por eso, en el caso del chocolate concretamente, se pone de manifiesto la necesidad de que las marcas blancas lleven a cabo estrategias de promoción de sus productos para que en el momento de la compra el consumidor ya conozca el producto y lo haya probado. Así, en el momento de la compra el consumidor lo elegirá y repetirá la compra tras comprobar que las propiedades sensoriales son tan adecuadas como las del producto de marca líder, en este caso.

Por otro lado, se ha puesto de manifiesto que la información en el etiquetado del chocolate no siempre tiene el efecto positivo de aumentar las expectativas, aceptabilidad o intención de compra sino que incluso puede tener el efecto contrario. En este caso, los dos tipos de informaciones del etiquetado mostraron tendencias distintas. En el caso del cacao de origen único se trata de una información que el consumidor no identifica como distintivo de calidad, ni le otorga un valor añadido y por ello no genera mayores expectativas que el chocolate regular. Por el contrario, en cuanto al alto porcentaje de cacao, es una característica que genera altas expectativas

entre los consumidores, pero no resulta lo suficientemente importante como para minimizar el efecto de las bajas propiedades sensoriales del producto. Resultado que pone de manifiesto que el consumidor no tiene claro qué significa el mensaje de un alto porcentaje de cacao en el etiquetado, ni a nivel de composición nutricional ni a nivel sensorial.

Los resultados de esta tesis ponen de manifiesto que un chocolate negro con un 85% de cacao tiene una baja aceptabilidad por parte del consumidor, por ello, en futuras investigaciones habría que valorar para qué porcentaje de cacao las expectativas coinciden con las características sensoriales del producto, para conseguir que éste sea altamente aceptable.

Los resultados obtenidos sobre la intención de compra fueron en el mismo sentido que los obtenidos sobre la aceptabilidad de las muestras. Si bien, cabe destacar que en el presente estudio no se tuvo en cuenta el precio de los chocolates y que esta variable podría haber modificado notablemente los resultados en la intención de compra. En futuras investigaciones a realizar con chocolate sería interesante considerar también la variable "precio". Así, se podría valorar la influencia de un precio alto en un chocolate de marca líder o con alegaciones específicas y de un precio bajo en un chocolate de marca blanca, sobre las expectativas y la aceptabilidad de los consumidores.

Este trabajo ha contribuido sin lugar a dudas a elucidar el efecto que los atributos no sensoriales tienen sobre las expectativas y aceptabilidad de los consumidores. En esta tesis se ha puesto en evidencia por primera vez, que en el caso concreto del chocolate negro los consumidores le dan mayor importancia a las propiedades sensoriales del producto que a la información del etiquetado. De manera que, aunque las expectativas que genere el producto sean altas, éste no será aceptado favorablemente si sensorialmente no le gusta al consumidor. Esta conclusión no es extrapolable a otros estudios de este tipo, ya que como se ha expuesto, la influencia de los atributos no sensoriales en ciertos alimentos tiene un efecto realmente importante sobre la decisión del consumidor.

La metodología utilizada en este trabajo pone de manifiesto la importancia de que durante el desarrollo de los productos alimentarios las empresas deberían hacer esfuerzos para conocer y entender las preferencias y las percepciones de los consumidores, tanto sensoriales como no sensoriales. Esto puede resultar de gran utilidad para predecir la respuesta real de los consumidores a los productos con características especiales, pudiendo garantizar así, el éxito de dichos productos en el mercado.

II. CONCLUSIONES

Del estudio realizado sobre la influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro, se pueden establecer las siguientes conclusiones generales:

1. Las diferencias existentes en la composición físico-química de los chocolates se explican fundamentalmente por el origen geográfico del cacao utilizado en su elaboración y no por las condiciones de procesado (tostado y conchado).
2. Las diferencias identificadas en el perfil de ácidos grasos de los chocolates ponen de manifiesto que el origen geográfico del cacao tiene un efecto significativo sobre el mismo, mientras que las condiciones de procesado, tiempo de tostado y conchado, no tienen efecto. Se demuestra además, que el chocolate elaborado con cacao de Ecuador tiene un perfil de ácidos grasos más saludable que aquél que se elabora con cacao de Ghana, por su mayor contenido en ácidos grasos insaturados y menor contenido en ácidos grasos saturados.
3. Los compuestos volátiles identificados en el chocolate negro y la variación en su concentración durante el tostado depende del origen geográfico del cacao.
4. Se ha demostrado que mediante el análisis multivariante se puede caracterizar y clasificar de forma sistemática la variación de los compuestos volátiles en matrices alimentarias tan complejas como el chocolate y evaluar así el efecto de variables como el origen del cacao y las condiciones del procesado industrial del mismo.
5. Para estudiar la aceptabilidad de los alimentos, resulta indispensable considerar la existencia de grupos de consumidores con distintos criterios de aceptabilidad. Esta aproximación proporciona información más válida sobre la aceptabilidad real del producto que si se considera únicamente el valor medio de aceptabilidad del global de los consumidores. Como muestran los resultados de este trabajo, este análisis favorece la selección adecuada de las condiciones de procesado del producto, y permite la obtención de chocolates de origen único con la máxima aceptabilidad entre consumidores.
6. Existen diferencias perceptibles a nivel sensorial entre los chocolates de distinto origen geográfico y sometido a distintas condiciones de procesado. Para la mayor parte de los atributos sensoriales considerados, fundamentalmente aquellos

relacionados con el olor y el sabor, el efecto del tostado es significativamente diferente para cada uno de los orígenes geográficos estudiados.

7. Los resultados del estudio de la relación entre los atributos sensoriales y la aceptabilidad del producto por parte de los consumidores permite identificar los atributos que conllevan a la aceptabilidad o rechazo del mismo, y decidir así, los parámetros susceptibles de ser modificados para satisfacer las preferencias de los consumidores.
8. El análisis de las expectativas que genera la información del etiquetado en el consumidor demuestra la importancia de estudiar el efecto de la información para cada producto concreto. En el caso del chocolate negro, esta tesis demuestra que tanto la aceptabilidad como la intención de compra no sólo dependen de las expectativas generadas por la información del etiquetado, marca y tipo de producto, sino que mayoritariamente dependen de las propiedades sensoriales del mismo.
9. La información generada en esta tesis constituye una base imprescindible para que las industrias chocolateras aborden la formulación y el diseño de chocolate negro de máxima calidad y aceptabilidad.

III. BIBLIOGRAFÍA

A

- Aceña, L., Vera, L., Guasch, J., Busto, O., & Mestres, M. (2010). Comparative study of two extraction techniques to obtain representative aroma extracts for being analysed by gas chromatography-olfactometry: Application toroasted pistachio aroma. *Journal of Chromatography A*, 1217, 7781–7787.
- Afoakwa, E. (2010). Chocolate production and consumption patterns. In E. Afoakwa (Ed.), *Chocolate Science and Technology* (pp. 1-11). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Afoakwa, E. (2010). Industrial chocolate manufacture - processes and factors affecting quality. In E. Afoakwa (Ed.), *Chocolate Science and Technology* (pp. 35-57). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Afoakwa, E. (2010). Sensory character and flavour perception of chocolates. In E. Afoakwa (Ed.), *Chocolate Science and Technology* (pp. 73-90). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Afoakwa, E. (2010). Tempering and fat crystallisation effects on chocolate quality. In E. Afoakwa (Ed.), *Chocolate Science and Technology* (pp.174-197). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Akoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: a critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 840-857.
- Amoye, S. (2006). Cocoa sourcing, world economics and supply. *The manufacturing Confectioner*, 86(1), 81-85.
- Anzaldúa-Morales, A. (1994). Las propiedades sensoriales. In A. Anzaldúa-Morales (Ed.), *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica* (pp.11-44). Zaragoza: Editorial Acribia.
- AOAC International (1995). Cacao beans and its products. AOAC Chapter 31. *Official Methods of Analysis*, (16th ed.) AOAC International: Arlington, VA.

AOAC International. (1995). Soxhlet fat extraction method. AOAC official method 948.22. *Official Methods of Analysis* (16th ed.) AOAC International: Arlington, VA.

Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Flavonoids as potencial therapeutic agents for type I diabetes. *Medical hypotheses*, 69(4), 995.

Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R., Giménez, G., & Gámbaro, A. (2010). Consumer expectations and perception of chocolate milk desserts enriched with antioxidants. *Journal of Sensory Studies*, 25, 243-260.

Arts, I.C., Jacobs, D.R. Jr., Gross, M., Harnack, L.J., & Folsom, A.R. (2002). Dietary catechins and cancer incidence among postmenopausal women: the Iowa Women's study (United States). *Cancer Causes Control*, 13(4), 373-382.

Awua, P.K. (2002). *Cocoa Processing and Chocolate Manufacture in Ghana*. Essex, UK: David Jamieson and Associates Press Inc.

B

Baba, S., Osakabe, N., Kato, Y., Natsume, M., Yasuda, A., Kido, T., Fukuda, K., Muto, Y., & Kondo, K. (2007a). Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85(3), 709-17.

Baba, S., Kondo, K., & Osakabe, N. (2001d). Daily cocoa intake reduces the susceptibility of LDL to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. *Free Radical Biology Research*, 34, 93-99.

Bainbridge, J.S., Davies, S.H. (1912). The essential oil of cocoa. *Journal of Chemical Society*, 101, 2209-2220.

Bayarri, S., Martí, M., Carbonell, I., & Costell, E. (2011). Identifying drivers of liking for commercial spreadable cheeses with different fat content. *Journal of Sensory Studies*, doi:10.1111/j.1745-459X.2011.00362.x.

- Beamon, B.M., Ware, T.M. (1998). A process quality model for the analysis, improvement and control of supply chain systems. *Logistics Information Management*, Vol. 11(2), 105-113.
- Bech-Larsen, T., Scholderer, J. (2007). Functional foods in Europe. Consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 231-234.
- Beckett, S.T. (2009). Traditional chocolate making. In S.T. Beckett (Ed.), *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp. 1-9). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Beckett, S.T. (2009). Conching. In S.T. Beckett (Ed.), *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp. 192-223). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Beckett, S.T. (2009). Chocolate flow properties. In S.T. Beckett (Ed.), *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp. 224-246). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Birt, DF., Hendrich, S. (2001). Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavones. *Pharmacology Therapy*, 90, 157-177.
- Bolling Johansen, S., Naes, T., & Hersleth, M. (2010). Motivation for choice and healthiness perception of calorie-reduced dairy products. A cross-cultural study. *Appetite*, 56, 15-24.

C

- CAE. (1997). Código Alimentario Español y disposiciones complementarias. CAE Capítulo XXV, Sec. 6. *Código Alimentario Español*, 3th ed. Tecnos: Madrid.
- Cala, R. (2001). Las Voces prehispanas cacao, cacahuete y maíz en diccionarios generales de lengua castellana, catalana e italiana del siglo XX. *Boletín Americanista*, 51, 25-41.

- Caporale, G., Monteleone, E. (2001). Effect of expectations induced by information on origin and its guarantee on the acceptability of a traditional food: olive oil. *Sciences des Aliments*, 21, 243-254.
- Cardello, A.V. (1994). Consumer expectations and their role in food acceptance. In H.J.H. MacFie, & D.M.H. Thomson (Eds.), *Measurement of food preferences* (pp. 253-297). London: Blackie Academic & Professional.
- Carnésecchi, S., Schneider, Y. (2002) Flavanols and procyanidins of cocoa and chocolate inhibit growth and polyamine biosynthesis of human colonic cancer cells. *Cancer Letters*, 175, 147-155.
- Clapperton, J., Yow, S., Chan, J., Lim, D., Lockwood, R., Romanczyk, L., & Hammerstone, J. (1994). The contribution of genotype to cocoa (*Theobroma cacao* L) flavour. *Tropical Agriculture (Trinidad)*, 71, 303-308.
- Coe, S.D., Coe, M.D. (1996). *The true History of Chocolate*. London: Thames and Hudson.
- Cook, N.C., Samman, S. (1996). Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Jouranal of Nutrition and Biochemistry*, 7, 66-76.
- Costell, E., Tarrega, A., & Bayarri, S. (2010). Food acceptance: The role of consumer perception and attitudes. *Chemosensory Perception*, 3 (1), 42-50.
- Costell, E. (2002). A comparison of sensory methods in quality control. *Food Quality and Preference*, 13, 341-353.
- Costell, E., Pastor, M.V., Izquierdo, L., & Durán, L. (2000). Relationship between acceptability and sensory attributes of peach nectars using internal preference mapping. *European Food Research and Technology*, 211, 199-204.
- Counet, C., Callemien, D., Ouwerx, C., & Collin, S. (2002). Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of

samples before and after conching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2385-2391.

D

Deliza, R., MacFie, H. J. H. (1996). The generation of sensory expectation by external cues and its effect on sensory perception and hedonic ratings: A review. *Journal of Sensory Studies*, 11, 103–128.

Deliza, R., Rosenthal, A., & Silva, A.L.S. (2003). Consumer attitude towards information on non conventional technology. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 43-49.

Dhoedt, A. (2008). Food of the Gods - the rich history of chocolates. *Agro-foods Industry Hi-Tech Journal*, 19(3), 4-6.

Dimick, P.S., Hoskin, J.C. (1999). The chemistry of flavour development in chocolate. In S.T. Beckett (Ed.), *Industrial chocolate manufacture and use* (pp. 137-152). Oxford: Blackwell Science.

Di Monaco, R., Olilla, S., & Tuorila, H. (2005). Effect of price on pleasantness ratings and use intentions for a chocolate bar in the presence and absence of a health claim. *Journal of Sensory Studies*, 20, 1-16.

Ding, E., Hutfless, S., Ding, X., & Girotra, S. (2006). Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutrition and Metabolism*. 3, 2.

Directiva 2000/36/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de junio de 2000, relativa a los productos de cacao y de chocolate destinados a la alimentación humana. Comité Mixto del Espacio Económico Europeo.

Dreosti, I.E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa and wine. *Nutrition*, 16, 692-694.

Duffy, V.B., Bartoshuk, L.M. (2000). Food acceptance and genetic variation in taste. *Journal of the American Dietetic Association*, 100(6), 647-655.

E

Elmore, J.S., Nisyrios, I., & Mottran, D.S. (2005). Analysis of the headspace aroma compounds of walnuts (*Juglans regia* L.). *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 501-506.

Evans, J.R., Lindsay, W.M. (2008). Calidad Total en las Organizaciones. In J.R. Evans & W.M. Lindsay (Ed.), *Administración y Control de la Calidad* (pp. 49-90). Méjico: Cengage Learning.

F

Fishken, D. (1990). Sensory quality and the consumer: viewpoints and directions. *Journal of Sensory Studies*, 5, 203-209.

Fowler, M.S. (2009). Cocoa beans: From tree to factory. In S.T. Beckett (Ed.), *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp.10-47). Oxford: Wiley-Blackwell.

Franco, O.H., Bonneux, L., de Laet, C., Peeters, A., Steyerberg, E.W., & Mackenbach, J.P. (2004). The Polymeal: a more natural, safer, and probably tastier (than the Polypill) strategy to reduce cardiovascular disease by more than 75%. *British Medical Journal*, 329, 1447-1450.

Frauendorfer, F., Schieberle, P. (2008). Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10244-10251.

G

Garvin, D.A. (1984). Product Quality: An important strategic weapon. *Business Horizons*, 27(3), 40-43.

Guinard, J.X., Bunsaku, U., & Schlich, P. (2001). Internal and external mapping of preferences for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by

consumers blind versus with knowledge of brand and price. *Food quality and preference*, 12, 243-255.

H

Heck, C.I., de Mejia, E.G. (2007). Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. *Journal of Food Science*, 72(9), 138-151.

Heldman, D. R. (2004). Identifying food science and technology research needs. *Food Technology*, 58, 32-34.

Hernández, C.V., Rutledge, D.N. (1994). Multivariate statistical analysis of gas chromatograms to differentiate cocoa masses by geographical origin and roasting conditions. *Analyst*, 119, 1171-1176.

Holt, R.R., Schramm, D.D., Keen, C.L., Lazarus, S.A., & Schmitz, H.H. (2002c). Chocolate consumption and platelet function. *Journal of the American Medical Association*, 287, 2212-2213.

I

International Cocoa Organisation (ICCO). (2008). International Cocoa Organisation Report of Cocoa Statistics. *The Manufacturing Confectioner*, 88(3), 39-40.

International Cocoa Organization (ICCO). (2005). Inventory of the Health and Nutritional Attributes of Cocoa and Chocolate. Retrieved from: <http://www.icco.org>.

International Organization for Standardization (ISO). ISO 8402, Quality Vocabulary, International Standard Organisation, Geneva, 1986.

J

Jaeger, S. R. (2006). Non-sensory factors in sensory science research. *Food Quality and Preference*, 17, 132-144.

Jinap, S., Rosli, W. I. W., Russly, A. R., & Nordin, L. M. (1998). Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*). *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 77, 441-448.

Jinap, S., Dimick, P.S., & Hollender, R. (1995). Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food Control*, 6(2), 105-110.

Jinap, S., Dimick, P.S. (1990). Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. *Journal of The Food Science*, 55(2), 547-550.

Juran, J.M. (1974). *Quality Control Handbook* (3rd ed.). New York: McGraw Book Co.

K

Karen, A.C., Campos-Giménez, A., Jiménez Alvarez, D., Kornél. N., & Donovan, J.L., Williamson, G. (2007). Rapid Reversed Phase Ultra-Performance Liquid Chromatography Analysis of the Major Cocoa Polyphenols and Inter-relationships of Their Concentrations in Chocolate. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(8), 2841-2847.

Kattenberg, H. R., Kemmink, A. (1993). The flavor of cocoa in relation to the origin and processing of the cocoa beans. In G. Charalambous (Ed.) *Food Flavors Ingredients and Composition* (pp. 1-22). Amsterdam: Elsevier Science.

Keeney, P.G. (1972). Various interactions in chocolate flavour. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 49, 567-572.

Khampuis, H. J. (2010). Production and quality standards of cocoa mass, cocoa butter and cocoa powder. In S. T. Beckett (Ed.), *Industrial chocolate manufacture and use*. (pp. 121-141). Oxford: Wiley-Blackwell.

Kondo, K., Hirano, R. (1996). Inhibition of LDL oxidation by cocoa. *The Lancet*, 348, 1514 (letter).

Kris-Etherton, P. M., Pearson, T. A., Wan, Y., Hargrove, R.L., Moriarty, K., Fishell, V., & Etherton, T. D. (1999). High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(6), 1009-1015.

Kris-Etherton, P. M., Mustad, V. A. (1994). Chocolate feeding studies: a novel approach for evaluating the plasma lipid effects of stearic acid. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60, 1029-1036.

Krist, S., Unterweger, H., Bandion, F., & Buchbauer, G. (2004). Volatile compound analysis of SPME headspace and extract samples from roasted Italian chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) using GC-MS. *European Food Research and Technology*, 219, 470–473.

Kurlandsky, S., Stote, K. (2006). Cardioprotective effects of chocolate and almond consumption in healthy women. *Nutrition Research*, 26(10), 509-516.

L

Lambert, J.P. (2009). Nutrition and Health Aspects of Chocolate. In S.T. Beckett (Ed.), *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp. 623-635). Oxford: Wiley-Blackwell.

Lange, C., Rousseau, F., & Issanchou, S. (1999). Expectation, liking and purchase behavior under economical constraint. *Food Quality and Preference*, 10, 31-39.

Liendo, R., Padilla, F., & Quintana, A. (1997). Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao* L. *Food Research International*, 30 (9), 727-731.

Linforth, R., Martin, F., Carey, M., Davidson, J., & Taylor, A.J. (2002). Retronasal transport of aroma compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1111-1117.

Lipp, M., Simoneau, C., Ulberth, F., Anklam, E., Crews, C., Brereton, P., ... Wiedmaier, C. (2001). Composition of Genuine Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents. *Journal of food composition and analysis*, 14, 399-408.

Luckow, T., Sheehan, V., Delahunty, C., & Fitzgerald, G. (2005). Determining the odor and flavor characteristics of probiotic, health-promoting ingredients and the effects of repeated exposure on consumer acceptance. *Journal of Food Science*, 70, S53-S59.

Luning, P. A., Marcelis, W. J., & Jongen, W. M. F. (2002). Food Quality Management: A Techno-Managerial Approach. Wageningen Press, Wageningen, The Netherlands
Marketing: The New Priority. (1993). *Business Week*, p. 96.

M

Mao, T., Van de Water, J., & Keen, C.L. (2000). Cocoa procyanidins and human cytokine transcription and secretion. *Journal of Nutrition*, 130, 2093S-2099S.

Maskarinec, G. (2009). Cancer protective properties of cocoa: a review of the epidemiologic evidence. *Nutrition and Cancer*, 61(5), 573-9.

Mela, D.J. (2001). Development and acquisition of food likes. In L. Frewer, E. Risvik & H. Schifferstein (Eds.), *Food, People and Society. A European Perspective of Consumers' Food Choices* (pp. 9-21). Berlin: Springer-Verlag.

Molnar, P.J. (1995). A model for overall description of food quality. *Food Quality and Preference*, 6, 185-190.

Motofsky, E., Levitan, E. B., Wolk, A., & Mittleman, M. A. (2010). Chocolate intake and incidence of heart failure: a population-based prospective study of middle-aged and elderly women. *Circulation Heart Failure*, 3(5), 612-616.

Moskowitz, H., Hartmann, J. (2008). Consumer research: creating a solid base for innovative strategies. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 581-589.

Mossu, G. (1992). *Cocoa*. London, UK: Macmillan.

Murphy, K.J., Chronopoulos, K. (2003). Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77, 1466-1473.

Mursu, J., Voutilainen, S., Nurmi, T., Rissanen, T.H., Virtanen, J.K., Kaikkonen, J., Nyyssönen, K., & Salonen, J.T. (2004). Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 37(9), 1351-1359.

N

Nazaruddin, R., Osman, H., Mamot, S., Wahid, S., & Nor, A. (2006). Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted Malaysian cocoa beans. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(3), 280-298.

Newsholme, H. C., Wong, E. (2001). The role of consumer expectations in food choice: a literature review. R & D Report No. 24. Campden & Chorleywood Food Research Association Group, pp. 74.

O

Olson, J. C., Dover, P. A. (1979). Disconfirmation of consumer expectations through product trial. *Journal of Applied Psychology*, 64, 179-189.

Oude Ophius, P., Van Trijp, H. (1995). Perceived quality a market driven and consumer oriented approach. *Food Quality and Preference*, 6(3), 177-183.

P

Parra, P., Ortiz de Bertorelli, L., & Graziani de Fariñas, L. (2003) Características químicas de la semilla de diferentes tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Aragua. *Agronomía Tropical*, 53(2), 133-144.

Pérez-Llamas, F., Larqué, E., & Zamora, S. (2010). Calidad nutritiva de los alimentos. In A. Gil (Ed.), *Tratado de Nutrición. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos* (pp. 563-583). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Perego, P., Fabiano, B., Caviocchioli, M., & del Borghi, M. (2004). Cocoa quality and processing. A study by solid-phase microextraction and gas chromatography analysis of methylpyrazines. *Journal of Food and Bioproducts Processing*, 84(C4), 291-297.

Peri, C. (2006). The universe of food quality. *Food Quality and Preference*, 17, 3-8.

Piggott, J.R., Schaschke, C.J. (2001). Release cells, breath analysis and in-mouth analysis in flavor research. *Biomolecular Engineering*, 17, 129-36.

Plumas, B., Hashim, L., & Chaveron, H. (1996). Measurement of the olfactive intensity of chocolates by differential olfactometry. *Food Control*, 3, 117-120.

Porter, L.J., Ma, Z., & Chan, B.G. (1991). Cacao procyanidins: major flavanoids and identification of some minor metabolites. *Phytochemistry*, 30, 1657-1663.

Praag, M.V., Stein, H.S., Tibbetts, M.S. (1968). Steam volatile aroma constituents of roasted cocoa beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(6), 1005-1008.

Prescott, J., Bell, G.A. (1995). Cross-cultural determinants of food acceptability: recent research on sensory perceptions and preferences. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 201-205.

Q

Quelch, J.A. (1987). Marketing the premium Product. *Business Horizons*, 30(3), 38-45.

R

Rezanka, T., Rezankova, H. (1999). Characterization of fatty acids and triacylglycerols in vegetable oils by gas chromatography and statistical analysis. *Analytica Chimica Acta*, 398, 253-261.

Rodriguez-Campos, J., Escalona-Buendía, H.B., Orozco-Avila, I., Lugo-Cervantes, E., & Jaramillo-Flores, M.E. (2011). Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao L.*) during fermentation and drying processes using principal component analysis. *Food Research International*, 44, 250-258.

Rozin, P., Levine, E., & Stoess, C. (1991). Chocolate craving and liking. *Appetite*, 17(3), 199-212.

Rozin, P. (1996). The socio-cultural context of eating and food choice. In H. Meiselman, & H.J.H. MacFie (Eds.), *Food choice, acceptance and consumption* (pp. 83-104). London: Blackie.

Rusconi, M., Conti, A. (2010). *Theobroma cacao L.* The Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research*, 61, 5-13.

S

Sabbe, S., Verbeke, W., & Van Damme, P. (2009b). Confirmation/disconfirmation of consumers' expectations of fresh and processed tropical fruit products. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 539-551.

Sanbongi, C., Osakabe, N., & Natsume, M. (1998). Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma Cacao*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 16(2), 446-454.

Sanbongi, C., Suzuki, N. (1997). Polyphenols in chocolate, which have antioxidant activity, modulate immune functions in humans in vitro. *Cellular Immunology*, 177, 129-136.

Sánchez-Rabáneda, F., Jáuregui, O., Andrés-Lacueva, C., & Lamuela-Raventós, R.M. (2003a). Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass

spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*).
Journal of Mass Spectrometry, 38(1), 35-42.

Sancho, J., Bota, E., & de Castro, J.J. (1999). Tipos de pruebas usadas en el análisis sensorial. En Edicions de la Universitat de Barcelona (Ed.). *Introducció al anàlisi sensorial de los alimentos* (pp. 119-150). Barcelona: Edicions de la Universitat de Barcelona.

Schewe, T., Kühn, H. (2002). Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-Lipoxygenase. *Journal of Nutrition*, 132, 1825-1829.

Schwan, R.F., Wheals, A.E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 205-221.

Schnermann, P., Schieberle, P. (1997). Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass buy aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3), 867-872.

Segall, S., Artz, W., Raslan, D., Ferraz, V., & Takahashi, J. (2005). Analysis of triacylglycerol isomers in Malaysian cocoa butter using HPLC-mass spectrometry. *Food Research International*, 38, 167-174.

Selmi, C., Cocchi, C.A., Lanfredini, M., Keen, C.L., & Gershwin, M.E. (2008). Chocolate at heart: the anti-inflammatory impact of cocoa flavanols. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52(11), 1340-1348.

Selmi, C., Mao, T.K., Keen, C.L., Schmitz, H.H., & Gershwin M.E. (2006). The anti-inflammatory properties of cocoa flavanols. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 47(2), S163-71; discussion S172-6.

Sheperd, R., Sparks, P., Bellier, S., & Raats, M.M. (1991/2). The effects of information on sensory ratings and preferences: the importance of attitudes. *Food Quality and Preference*, 3, 147-155.

- Shimada, Y., Goto, H., Kogure, T., Shibahara, N., Shibahara, I., & Sasaki H. (2001). Protective effect of phenolic compound isolated from the hooks and stems of *Uncaria sinensis* on glutamate-induced neuronal death. *The American Journal of Chinese Medicine*, 29(1), 173-80.
- Simoneau, C., Hannaert, P., & Anklam, E. (1999). Detection and quantification of cocoa butter equivalents in chocolate model systems: analysis of triglyceride profiles by high resolution GC. *Food Chemistry*, 65, 111-116.
- Spencer, J.P. (2009). Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms. *Genes and Nutrition*, 4(4), 243-250.
- Spencer, J.P., Schroeter, H., & Rice-Evans, C. (2001). Epicatechin and its in vivo metabolite, 3'-O-methyl epicatechin, protect human fibroblasts from oxidative-stress-induced cell death involving caspase-3 activation. *Biochemical Journal*, 354, 493-500.
- Serra-Bonvehí, J. (2005). Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. *European Food Research and Technology*, 221, 19-29.
- Steinberg, F.M., Bearden, M.M., & Keen, C.L. (2003). Cocoa and chocolate flavonoids: implication for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetics Association*, 103(2), 215-223.

T

- Talbot, G. (1999). Chocolate temper. In S.T. Beckett (Ed.), *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp. 218-230). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Taylor, A.J., Linforth, R.S.T. (1996). Flavour release in the mouth. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 444-448.
- Thijssen, M., Mensink, R. (2005). Small differences in the effects of stearic acid, oleic acid, and linoleic acid on the serum lipoprotein profile in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82, 510-516.

Tuorila, H., Cardello, A.V. (2002). Consumer responses to an off-flavour in juice in the presence of specific health claims. *Food Quality and Preference*, 13, 561-569.

Tuorila, H., Monteleone, E. (2009). Sensory food science in the changing society: Opportunities needs and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 54-62.

U

USDA National Nutrient Database for Standard Reference. (2010). Retrieved from: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl

V

Varela, P., Ares, G., Giménez, A., & Gámbaro, A. (2010). Influence of brand information on consumers' expectations and liking of powered drinks in central location tests. *Food Quality and Preference*, 21, 873-880.

Verbeke, W. (2006). Functional foods. Consumer willingness to compromise on taste for health? *Food Quality and Preference*, 17, 126-131.

Villegas, B., Carbonell, I., & Costell, E. (2008). Effects of product information and consumer attitudes on responses to milk and soybean vanilla beverages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2426-2434.

W

Wan, Y., Vinson, J. A., Etherton, T. D., Proch, J., Lazarus, S. A., & Kris-Etherton, P. M. (2001). Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 596-602.

Wang, J.F., Keen, C.L., & Fraga, C.G. (2000). A dose-response effect from chocolate consumption on plasma epicatechin and oxidative Damage. *Journal of Nutrition*, 130, 2115S-2119S.

Waterhouse, A., Shirley, J., Donovan, J. (1996). Antioxidants in chocolate. *Lancet*, 348, 834.

Weingarten, H.P., Elston, D. (1991). Food cravings in a college population. *Appetite*, 17(3), 167-175.

Weisburger, J.H. (2001). Chemopreventive effects of cocoa polyphenols on chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 226(10), 891-897.

Whitefield, R. (2005). *Making Chocolate in the Factory*. London: Kennedy's Publications.

Whymper, R. (1912). History and growth of the cacao industry. In R. Whymper (Ed.), *Cocoa and Chocolate, Their Chemistry and Manufacture*. London: Churchill.

Williams, R.J., Spencer, J.P. (2011). Flavonoids, cognition, and dementia: Actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radical Medicine and Biology*, doi: j.freeradbiomed.2011.09.010.

Wollgast, J., Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33, 423-447.

Won Lee, K., Jun Kim, Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7292-7295.

Y

Yamagishi, M., Natsume M. (2003). Chemoprevention of lung carcinogenesis by cacao liquor proanthocyanidins in male rat multi-organ carcinogenesis model. *Cancer Letters*, 191(1), 49-57.

Z

Zern, T.L., Fernandez, M.L. (2005). Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols.
Journal of Nutrition, 135, 2291-2294.

Ziegleder, G.R., Hogg, R. (2009). Particle size distribution. In S.T. Beckett (Ed.),
Industrial Chocolate Manufacture and Use (pp. 142-168). Oxford: Wiley-Blackwell.

IV. APORTACIONES CIENTÍFICAS COMPLEMENTARIAS

Complementariamente a los artículos presentados en esta tesis se han realizado otras contribuciones científicas que se detallan a continuación:

CONTRIBUCIONES A CONGRESOS

Internacionales

Presentación póster:

Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Costell, E. y Blanch, C.

Influence of cocoa origin and processing conditions on chocolate acceptability. Fourth European Conference on Sensory and Consumer Research. A sense of Quality. Vitoria-Gasteiz, 2010.

Torres-Moreno, M., Tarrega, A. y Blanch, C.

Volatile compounds characterization in dark chocolates by HS-SPME and GC-MS. Influence of cocoa origin and roasting conditions. XIII Weurman Flavour Research Symposium. Zaragoza, 2011.

Nacionales

Presentación póster:

Blanch, C. y **Torres-Moreno, M.**

El análisis sensorial como herramienta de evaluación de la calidad alimentaria en chocolates. III Congreso de la Asociación Española de Dietistas Nutricionistas. Madrid, 2006.

Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Torrecasana, E. y Blanch, C.

Influencia de la información del etiquetaje en la aceptabilidad del chocolate negro. V Congreso Asociación Española de Dietistas Nutricionistas. Valladolid, 2011.

PUBLICACIONES DE COMUNICACIONES A CONGRESOS

Torres-Moreno, M., Tarrega, A. y Blanch, C.

Volatile compounds characterization in dark chocolates by HS-SPME and GC-MS.

Influence of cocoa origin and roasting conditions. Weurman Proceedings. 2012

(sometido).

