

## 카카오닙과 커버춰의 가공 조건에 따른 기능성 분석

최수영<sup>1</sup> · 손양주<sup>1</sup> · 유경미<sup>2</sup> · 이기원<sup>3</sup> · 황인경<sup>1</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 식품영양학과 · 생활과학연구소

<sup>2</sup>송의여자대학 식품영양과

<sup>3</sup>서울대학교 농업생명과학대학 바이오모듈레이션 전공

### Functional Activities of Cacao Nibs and Couvertures according to Process Conditions

Soo-Young Choi<sup>1</sup>, Yang-Ju Son<sup>1</sup>, Kyung-Mi Yoo<sup>2</sup>, Ki-Won Lee<sup>3</sup>, and In-Kyeong Hwang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition · Research Institute of Human Ecology and <sup>3</sup>WCU Biomodulation Major,  
Department of Agricultural Biotechnology, Seoul National University

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, SoongEui Women's College

**ABSTRACT** This study was conducted to provide information regarding changes in antioxidant activity in response to conching temperatures, conching times, and cacao mass content (CMC) in dark chocolate. The radical scavenging activities and functional components of cacao nibs were highest for raw cacao nib (R0) under all conditions. Moreover, antioxidant activities and functional compounds increased during roasting for 25 min. As the conching temperature increased, the radical scavenging activities and functional components increased. Quantitative analysis of major catechin-derived compounds by HPLC revealed that R0 had the highest value for other roasted cacao nibs in all aspects ( $P<0.05$ ). The content of procyanidin B2, catechin, and epicatechin increased during roasting for 25 min. Finally, evaluation of couvertures revealed that procyanidin B1 content increased as conching time increased to 48 h, except for 70% CMC and conched at 60°C (HH) and 70% CMC and conched at 50°C. Overall, HH48 contained the richest catechin-derived components.

**Key words:** cacao nib, roasting, conching, chocolate, antioxidant activity

## 서 론

카카오(cacao)는 남부 및 중부 아메리카 열대 지방에서 유래한 작물로, 학명은 *Theobroma cacao*이다. 열매는 길이 10 cm 정도의 타원 모양으로 40~60개의 종자가 들어있는데, 이것을 발효 및 수세 후 건조한 것이 카카오콩(cacao bean)이다(1). Herrmann(2)은 카카오콩에 약 2%의 테오브로민(theobromine)과 약간의 카페인(caffeine), 그리고 50% 가량의 지방과 함께 상당량의 (+)-catechin, (-)-epicatechin과 같은 flavan-3-ol 단량체 및 이를 기반으로 한 이량체인 procyanidin B1과 procyanidin B2, 그리고 기타 소중합체들이 함유되어 있다고 보고한 바 있다(Table 1) (2). 카테킨 유래 성분들은 고혈압과 심근경색 등의 심혈관계 질환 발생의 위험을 낮추고 혈청 콜레스테롤의 산화 지연 및 HDL 수치를 높임으로써 체내 지방 산화를 예방하며(3),

노화의 원인이 되는 활성산소를 제거하는 기능을 하므로 카카오는 홍차, 적포도주와 더불어 높은 항산화 기능을 가진 식품소재로 알려져 있다(4).

카카오콩은 발효 과정(fermentation)을 통해 향미 전구체들이 생성된다. 이는 로스팅 공정(roasting)을 통해 바람직한 초콜릿의 향미로 변화되므로 초콜릿의 향미를 결정하는 가장 중요한 단계로 여겨지며(5), 살모넬라(*Salmonella*)와 같은 미생물을 불활성화시킴으로써 식중독을 예방하는 단계이기도 하다(6). 로스팅 방법은 열의 전도와 대류방식에 따라 크게 직화식, 반열풍식, 열풍식으로 구분된다. 직화식은 가장 초기 형태이자 생두에 직접 열을 가하는 방식으로 열의 전달 효율이 낮아 현재는 잘 쓰이지 않는 방법이고, 열풍식은 열풍을 생두에 쬐어주는 방식이므로 신속하고 고르게 로스팅을 할 수 있지만 설비에 많은 비용이 요구되므로 대량생산을 하는 공장에서 주로 쓰이고 있다. 반열풍식은 직화식 로스팅 방법에 이용되는 드럼(drum, 카카오콩이 투입되는 곳)의 타공을 없앴으로써 낮은 열효율을 개선한 방법이다(7). 열풍식 방법에 대한 선행연구로는 130~150°C에서 15~45분간 로스팅하는 것이 가장 일반적이라는 연구(8)

Received 17 September 2015; Accepted 15 November 2015

Corresponding author: In-Kyeong Hwang, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 08826, Korea

E-mail: ikhwang@snu.ac.kr, Phone: +82-2-880-5708

**Table 1.** Summary of different polyphenols in cocoa beans or cocoa products<sup>1)</sup>

Catechins	Procyanidins	Anthocyanins	Flavanol glycosides	Others
(-)-Epicatechin	Procyanidin B1, B2, B3, B4, B5 <sup>2)</sup>	Cyanidin-3- $\alpha$ -L-arabinoside	Quercetin-3-O- $\alpha$ -D-arabinoside	Clovamide
(+)-Catechin	Procyanidin C1 <sup>3)</sup>	Cyanidin-3- $\beta$ -D-galactoside	Quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopuranside	Dideoxy clovamide
(+)-Gallocatechin	Procyanidin D <sup>4)</sup>			
(-)-Epigallocatechin	Higher oligo-and polymers <sup>5)</sup>			

<sup>1)</sup>Herrmann (2).

<sup>2)</sup>Procyanidin B1=epicatechin-(4 $\beta$ →8)-catechin, procyanidin B2=epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin, procyanidin B3=epicatechin-(4 $\alpha$ →8)-catechin, procyanidin B4=epicatechin-(4 $\alpha$ →8)-epicatechin, procyanidin, B5=epicatechin-(4 $\beta$ →6)-epicatechin.

<sup>3)</sup>Epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin.

<sup>4)</sup>Epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin-(4 $\beta$ →8)-epicatechin.

<sup>5)</sup>Mostly homologues of epicatechin with 2 to 18 monomeric units.

및 말레이시아산 카카오콩의 120~170°C에서 20~50분의 로스팅 조건에 따른 향기 성분을 분석한 연구(5), 180°C에서 10, 30, 50분의 로스팅 시간에 따른 항산화능 및 HMF (5-(hydroxy-methyl)-2-furaldehyde) 생성 정도의 차이를 분석한 연구(9) 등 다양하게 존재하나 반열풍식 방법은 소규모 생산에 주로 제한되어 있어, 반열풍식 로스팅 조건에 대한 연구가 미비한 실정이다.

콘칭 공정(conching)은 로스팅을 마친 카카오콩의 껍질을 제거한 뒤 분쇄한 배유, 즉 카카오닙(cacao nib)을 설탕과 코코아버터, 유헬제 등을 혼합 및 가열하며 초콜릿 반죽(커버춰)을 만드는 단계이다(10). 커버춰는 이 단계를 거치게 되면 수분 및 불쾌취, 입자 크기 등이 감소하고 균질한 액체 상태로 변화하게 되는데(11), 진행 정도에 따라 커버춰의 살균 효과가 높아지고 질감의 부드러운 정도가 결정되므로 콘칭 시간 및 온도 조건의 수립은 매우 중요하다고 할 수 있다. 콘칭 공정은 주로 50°C 전후에서 수행되는데, 이는 50°C 전후에서 코코아버터가 모두 용해되어 액상형태로 바뀌기 때문이다(12). 하지만 콘칭 공정의 시간 조건의 경우 7~12시간 콘칭에 따른 항산화능 특성을 분석한 연구(11) 및 270분간의 콘칭을 거쳐 제조한 초콜릿의 물성학적 차이를 규명한 연구(13) 등 상당수의 연구에서 초콜릿 공장에서 48~72시간의 콘칭을 거치는 것에 비해 짧은 공정 시간을 바탕으로 하고 있으므로 연구 결과의 실질적인 반영이 어렵다는 한계를 지니고 있다. 따라서 본 연구에서는 카카오닙을 만들기 위한 카카오콩의 반열풍식 로스팅 최적 조건을 탐색하고, 카카오닙에 대한 콘칭 온도(50, 60°C)와 시간(24, 48, 72 h)에 따른 항산화 활성의 차이를 분석함으로써 기능성 초콜릿의 가공 조건에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 추출

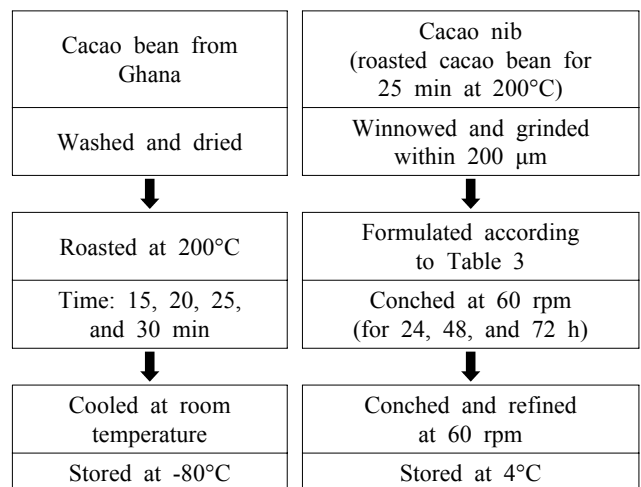
본 실험에서는 가나산 포라스테로 품종의 카카오콩(cacao bean)(*Theobroma cacao*, Roasting House, Paju, Korea)을 이용하였으며, 2014년에 산지에서 수확, 세척 및 건조가

완료된 것을 사용하였다. 볶는 방법은 반열풍 방식을 이용하였다. 가공 온도는 선행논문들을 참고하여 일반적인 가공 온도 범위에 해당하는 200°C로 설정하였으며(14,15), 시간 조건은 15분, 20분, 25분, 30분으로 각각 달리하여 처리하였다. 로스팅이 끝난 카카오콩은 일정한 크기(800  $\mu$ m 이하)로 분쇄함으로써 4가지 종류의 카카오닙(cacao nib)을 얻었으며, 비닐백 및 밀폐용기를 사용하여 이중으로 밀봉한 후 -80°C에서 냉동보관하며 이용하였다. 로스팅 기계(THCR-01(1 kg), Taehwan, Paju, Korea)를 이용한 가공 조건은 Table 2 및 Fig. 1과 같다.

커버춰를 만들기 위한 재료로 가나산 포라스테로 품종의

**Table 2.** Roasting conditions for cacao nibs

Category	Conditions
Model	THCR-01 (1 kg), Taehwan, Paju, Korea
Capacity	1.5 kg/batch
Heat source (type)	Electronic
Initial temperature	200°C
End temperature	200°C
Roasting time	15, 20, 25, 30 min



**Fig. 1.** Flow diagram illustrating the methods of roasting cacao bean and conching liquor.

카카오콩(Roasting House), 백설탕(CJ, Incheon, Korea), 코코아버터(ECC NV, Malle, Belgium), 유화제(soy lecithin liquid type)(SOLAE LLC, St. Louis, MO, USA)를 구입하여 이용하였다. 카카오콩은 200°C에서 25분간 로스팅하여 냉각시키고 님분리기(THNP-10, Taehwan)를 이용하여 내피와 외피를 제거하고 분쇄한 뒤, 믹서(TOUCH&GO 2, Vitamix, Cleveland, OH, USA)를 이용하여 200 µm 이하로 더 작게 분쇄한 것을 카카오닙으로 이용하였다. 이에 설탕과 코코아버터, 유화제를 정해진 비율에 따라 첨가하여 콘체 및 리파이닝기(THCM-02, Taehwan)를 이용하여 60 rpm의 속도로 반죽하는 작업(콘칭)이 끝난 초콜릿 반죽(커버취)을 3 L 용량의 밀폐용기(LOCK&LOCK, Asan, Korea)에 넣어 4°C에서 보관하며 이용하였다. 재료의 배합비율 및 가공 조건은 Table 3, 4 및 Fig. 1과 같다.

항산화 활성 및 기능성 성분 분석을 위한 카카오닙 및 커버취의 추출 전처리법은 선행연구의 방법을 일부 변형하여 다음과 같이 실시하였으며, 용매는 해당 연구 결과에서 항산화 물질의 농도가 가장 높게 측정되었던 70% acetone으로 결정하였다(16). 모든 시료는 2시간 동안 -78°C에서 냉동한 뒤 사용하였으며, 막자사발을 이용하여 균일한 크기로 분쇄한 뒤 4 g씩 칭량하였다. 그 후 탈지를 위하여 n-hexane 20 mL를 넣어 10분 동안 진탕(Bransonic ultrasonic cleaner, Branson Ultrasonics, Danbury, CT, USA)한 후 원심

분리(3,000 rpm, 10 min)를 거쳐 상층액을 제거하였다. 이 과정을 총 3번 실시한 뒤 상온의 압소에서 24시간 동안 건조시켰으며, 70% acetone을 이용하여 20 mL씩 2번 추출함으로써 제조하였다. 완성된 항산화 실험용 시료의 농도는 탈지 후 기준으로  $50.07 \pm 4.78$  mg/mL였고, 빛을 차단한 뒤 -78°C의 냉동고에 보관하며 이용하였다.

### ABTS 자유기 소거 활성능

ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) 자유기 소거 활성은 선행연구의 방법에 준하여 측정하였다(17). 100 mM PBS에 녹인 AAPH(2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride) 1.0 mM 및 2.5 mM ABTS를 1:1의 부피비로 혼합한 뒤 70°C의 항온수조에서 40분 정도 방치하여 ABTS cation을 형성시켰다. 이를 734 nm에서의 흡광도가  $0.65 \pm 0.02$ 가 되도록 조정하였다. 100 배로 희석한 시료 20 µL에 ABTS 용액 980 µL를 넣어 37°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 분광광도계(DU 530 spectrophotometer, 4300N, Beckman, Fullerton, CA, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 Trolox((±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 10~80 µg/mL에서의 검량선( $R^2 = 0.9983$ )을 작성한 후 mg Trolox equivalent(mg TE/g of sample)로 환산하여 나타내었다.

### DPPH 자유기 소거 활성능

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 자유기 소거 활성은 Trolox equivalents antioxidant capacity(TEAC) 방법을 이용하여 실시하였다(18). 100배로 희석한 시료 200 µL에 0.2 mM DPPH 용액 800 µL를 가하여 혼합한 뒤 상온의 암실에서 30분간 반응시킨 후, microplate reader(SpectraMax 190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 물질로 Trolox(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였으며 30~300 µg/mL의 농도로 검량선( $R^2 = 0.9991$ )을 작성하여 % 단위로 환산 후 결과를 얻었다.

### 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량(total polyphenol content, TPC) 측정은 Folin Ciocalteu의 방법을 변형하여 분석하였다(19). 10 배로 희석한 시료 60 µL에 증류수 300 µL를 가하고, Folin-Ciocalteu reagent(Sigma-Aldrich Co.) 300 µL와 반응시킨 뒤 30% sodium bicarbonate( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 용액 900 µL와 증류수 240 µL를 첨가하고 2시간 동안 상온의 암실에서 방치하였다. 이후 상층액을 취하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 25~400 µg/mL의 범위에서 작성( $R^2 = 0.9951$ )한 뒤 mg gallic acid equivalent(mg GAE/g of sample)로 환산하여 표기하

**Table 3.** Ratio of ingredients for couverture samples

Ingredients	Couverture with CMC <sup>1)</sup>	
	70%	60%
Cacao nib	66.53	57.66
Cocoa butter	3.50	2.62
Sugar	29.61	39.32
Lecithin	0.35	0.39
Total	100.00	100.00

<sup>1)</sup>CMC: cacao mass content; cacao nib and cocoa butter.

**Table 4.** Conching conditions of cacao mass content (CMC), conching temperature, and conching time for couverture

Group <sup>1)</sup>	CMC <sup>2)</sup> (%)	Temperature (°C)	Time <sup>3)</sup> (h)		
			24	48	72
HH	70	60	(HH1)	(HH2)	(HH3)
HL	70	50	(HL1)	(HL2)	(HL3)
LH	60	60	(LH1)	(LH2)	(LH3)
LL	60	50	(LL1)	(LL2)	(LL3)

<sup>1)</sup>HH: high CMC and high temperature, HL: high CMC and low temperature, LH: low CMC and high temperature, LL: low CMC and low temperature.

<sup>2)</sup>CMC: cacao mass content.

<sup>3)</sup>Time: couvertures conching hours.

였다.

**총 플라보노이드 함량**

총 플라보노이드 함량(total flavonoid content, TFC)은 선행연구의 방법을 참고하여 분석하였다(20). 10배로 희석한 시료 150 µL에 증류수 600 µL를 가하여 교반한 후, 5% sodium nitrate(NaNO<sub>3</sub>) 45 µL를 넣고 혼합하여 5분간 방치 및 10% aluminium chloride(AlCl<sub>3</sub>) 45 µL를 가하여 교반한 뒤 6분간 방치하였다. 이후 1 M sodium hydroxide (NaOH) 300 µL를 가하고 증류수 360 µL를 넣어 희석한 후 교반하였다. 이에 대한 흡광도를 510 nm에서 측정하였으며, 표준물질로 (+)-catechin(Sigma-Aldrich Co.)을 이용한 검량선을 50~400 µg/mL의 범위에서 작성(R<sup>2</sup>=0.9978)한 뒤 mg catechin equivalent(mg CE/g of sample)로 환산하였다.

**주요 카테킨 중합체의 정량**

모든 시료는 4가지 카테킨 유래 유효 성분(catechin, epicatechin, procyanidin B1, procyanidin B2)의 함량을 정량하기 위해 탈지 후 메탄올로 추출한 것을 인산 완충 용액(phosphate buffer, pH 6.6)으로 2배 희석하여 0.45 µm hydrophobic syringe filter(Advantec MFS, Tokyo, Japan)로 여과하여 사용하였다. 분석 조건은 선행연구(4)의 방법을 응용하여 설정하였다(Table 5). 각 화합물의 정량을 위한 용매 및 기준 물질로는 methanol(HPLC grade, J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA), water(HPLC grade, J.T. Baker) 및 Sigma-Aldrich Co. 제품인 녹차에서 추출한 epicatechin을 비롯하여 (+)-catechin, procyanidin B1, procyanidin B2를 구입하여 사용하였다. Catechin은 0~200 µg/mL, epicatechin은 0~1,000 µg/mL, procyanidin

**Table 5.** Operating conditions of HPLC for quantification of catechins in samples

Category	Conditions		
Model	Dionex, summit HPLC (P680 pump, ASI-100 injector, UVD 430U detector)		
Column	X-Terra RP C18 (4.6×250 mm, 5 µm, Waters, Milford, MA, USA)		
	Time (min)	A (0.1% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	B (methanol)
Mobile phase (gradient)	0	85	15
	10	85	15
	15	70	30
	25	70	30
	35	85	15
Flow rate	1.0 mL/min		
Injection volume	20 µL		
Temperature	Column and sample: room temperature		
Detection time	30 min		
Wavelength	280 nm		

B1은 0~400 µg/mL, procyanidin B2는 0~500 µg/mL의 농도 범위에서 표준 검량선을 작성하여 그 함량을 환산하였다.

**통계처리**

본 연구의 모든 실험은 3반복으로 시행되었으며, 이에 따른 통계처리는 SPSS ver.20.0(IBM, Armonk, NY, USA) 프로그램을 이용하여 실시하였다. 각 시료마다의 평균 차이를 분석하기 위하여 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 실시하였고, 이에 따라 유의적인 차이가 나타날 경우 P<0.05 수준에서 Duncan의 다중범위 시험법(Duncan's multiple range test)으로 사후검정을 실시하였다.

**결과 및 고찰**

**카카오닙의 항산화능 및 기능성 성분**

본 실험에서 카카오닙을 대상으로 한 70% 아세톤 추출물의 항산화 활성을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 카카오닙은 모든 실험에서 가열을 하지 않은 시료가 가장 높은 값을 나타내었다. 따라서 가열 공정에 해당하는 로스팅 방법이 카카오닙이 본래 함유하고 있던 항산화 물질을 감소시켰을 것으로 예측되며, 이는 로스팅 공정에 의해 DPPH의 EC<sub>50</sub> 값이 증가하였다는 연구 결과(21) 및 로스팅 후의 카카오닙이 가열을 거치지 않은 시료보다 활성산소 제거능력(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)이 감소되었다는 보고(22)와 같은 맥락인 것으로 사료된다. ABTS와 TPC 분석 결과 25분 이내의 가열 공정을 거친 시료군들 내에서는 로스팅 시간이 길어질수록 모든 실험 항목의 값이 증가하는 경향을 보였으나, 30분을 처리한 시료군(R30)의 항산화 능력은 오히려 낮아지는 결과를 보였다(P<0.05). 한편 DPPH, TFC를 분석한 결과에서는 가열 시간이 증가할수록 라디칼 소거능과 플라보노이드 함량이 증가하였다. Pyrazine은 식

**Table 6.** The antioxidant activity of 70% acetone extraction of cacao nibs roasted at 200°C under different roasting times

Sam- ples <sup>1)</sup>	ABTS <sup>2)</sup> (mg TE/g)	TPC (mg GAE/g)	DPPH (%)	TFC (mg CE/g)
R0	95.68±2.93 <sup>a3)</sup>	32.54±0.25 <sup>a</sup>	53.91±0.54 <sup>a</sup>	24.35±0.22 <sup>a</sup>
R15	47.35±0.50 <sup>d</sup>	14.78±0.06 <sup>c</sup>	21.31±0.13 <sup>c</sup>	7.48±0.05 <sup>c</sup>
R20	50.68±0.76 <sup>c</sup>	15.33±0.19 <sup>d</sup>	22.18±0.72 <sup>c</sup>	8.16±0.11 <sup>d</sup>
R25	56.68±0.29 <sup>b</sup>	16.50±0.01 <sup>b</sup>	26.04±0.80 <sup>b</sup>	8.61±0.14 <sup>c</sup>
R30	49.02±0.58 <sup>cd</sup>	16.05±0.12 <sup>c</sup>	26.49±0.95 <sup>b</sup>	8.90±0.05 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>R0: raw cacao nib, R15: roasted at 200°C for 15 min, R20: roasted at 200°C for 20 min, R25: roasted at 200°C for 25 min, R30: roasted at 200°C for 30 min.

<sup>2)</sup>ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), TPC: total phenolic content, DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, TFC: total flavonoid content.

<sup>3)</sup>All results are expressed as mean±SD (standard deviation) for three replicates. Different letters (a-e) indicate significant differences (P<0.05) in the same column.

품 내에 아미노산과 환원당이 함유되어 있을 때 마이야르 반응(Maillard reaction)에 따라 생성되는 항산화성 물질로 이는 시간과 온도, pH, 반응 물질의 농도 및 수분활성도 등의 인자들과 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 로스팅을 거치지 않은 카카오콩을 kg당 41 g의 폴리페놀이 함유되도록 조정된 뒤 로스팅을 진행하였을 때 pyrazine류의 총 생성량이 증가하였다가 35분 경과 시 감소하였다는 연구 결과(23)는 본 연구의 ABTS 및 TPC의 실험 결과와 유사한 맥락인 것으로 생각된다. 종합적으로 모든 실험에서 R0이 가장 높은 값을 보였고 로스팅 시료들은 25분 이내로 가열 처리한 경우에는 시간 경과에 따라 항산화능 및 기능성 성분의 함량이 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 가열 공정 초기에는 산화를 억제하는 기능을 지닌 화합물의 파괴가 이루어지며, 이후 로스팅이 진행되는 동안 pyrazine류의 생성 등과 같은 변화가 나타날 수 있음을 시사한다.

### 커버춰의 항산화능 및 기능성 성분

커버춰를 대상으로 한 70% 아세톤 추출물의 항산화 활성을 분석한 결과는 Table 7과 같다. ABTS 분석 결과 50°C에서 콘칭을 수행한 60% 카카오매스 함량(cacao mass content, CMC)의 시료군(LL군)을 제외한 모든 시료는 콘칭 시간이 증가할수록 항산화능이 증가하였으나 48시간 및 72시간 처리군 간의 유의적인 차이는 없었다. 또한 같은 카카오매스 함량인 시료 간에서는 콘칭 온도가 높을수록 항산화능이 높게 측정되었다. 한편 DPPH 분석 결과 CMC 70%인 시료들은 콘칭 시간이 소요일수록 항산화능이 증가하는 경향을 보였으나, 48시간 및 72시간 처리군 간에만 유의적인 차이를 보였다. 한편 CMC 60%인 시료들 간에는 콘칭 시간에 따른 영향의 차이는 없었다. 같은 CMC 함량의 시료군 내에서는 콘칭 온도가 높을수록 항산화능이 높게 나타나 ABTS와 같은 경향을 보였다. TPC의 분석 결과 60°C에서

콘칭을 수행한 70% CMC의 시료군(HH군)을 제외한 모든 군들에서는 콘칭 시간이 48시간인 시료들의 함량이 가장 높게 나타났으며, TFC는 48시간의 콘칭을 거친 시료들이 유의적으로 높은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 이러한 결과는 초콜릿의 폴리페놀이 항산화력에 영향을 주는 원인이라는 연구 결과(24) 및 폴리페놀이 자유기 소거능과 큰 관련성이 있다는 선행연구(9)와 같은 결과인 것으로 보인다.

카카오매스는 카카오닙의 로스팅 및 분쇄를 거친 후 갈아서 만든 반죽을 굳힌 것으로 초콜릿 중의 주요 항산화 성분이 포함되어 있어 함량과 항산화능은 일반적으로 비례하는 경향을 보인다. 하지만 본 실험의 결과에 따르면 카카오 함량이 상대적으로 낮은 60°C에서 콘칭을 수행한 60% CMC의 시료군(LH군)의 항산화능이 모든 콘칭 시간 내에서 50°C에서 콘칭을 수행한 70% CMC의 시료군(HL군)의 결과값보다 높은 수치를 보였다. 선행연구에 따르면 35% 이상의 코코아 고형분을 함유한 초콜릿을 식품공전상 다크초콜릿으로 분류하며, 해당 시료(DC)에 대해 ABTS를 수행한 결과  $147.467 \pm 12.943 \mu\text{M/L}$  Trolox의 실험값을 보였다고 하였다(4). 이 참고치를 Trolox의 분자량(250.29 mg/mole)을 감안하여 본 연구에서 나타낸 단위로 환산하면 약 34.54 mg TE/g으로 나타낼 수 있고, 기재된 검량선( $y=1.23724x - 0.00140$ ,  $R^2=0.9992$ )을 이용하여 코코아 고형분 함량과 ABTS 결과를 각각 분석하였을 때 정비례하는 경향을 보였다. 이러한 경우 60% CMC의 다크초콜릿은 약 59.2 mg TE/g, 70% CMC의 다크초콜릿은 약 69.08 mg TE/g으로 환산할 수 있다. 이를 코코아 고형분의 함량 대비에 따라 본 연구의 60% CMC 시료군 및 70% CMC 초콜릿의 시료군의 실험값과 각각 비교하였을 때 두 군 모두에서 50°C에서 콘칭을 수행한 수치와 유사한 것으로 판단되었다. 60°C에서 콘칭 처리군의 결과값은 이에 대비 60% CMC의 시료군일 경우 20% 이상, 70% CMC의 시료군일 경우 10% 가량 상승

**Table 7.** The antioxidant activity of 70% acetone extraction of couvertures under different conching conditions

Samples <sup>1)</sup>	ABTS <sup>2)</sup> (mg TE/g)	TPC (mg GAE/g)	DPPH (%)	TFC (mg CE/g)
HH24	76.57±2.52 <sup>bc3)</sup>	28.54±0.53 <sup>a</sup>	41.92±0.15 <sup>b</sup>	16.57±0.41 <sup>cd</sup>
HH48	80.87±2.18 <sup>a</sup>	27.09±0.50 <sup>b</sup>	41.56±0.44 <sup>b</sup>	19.25±0.24 <sup>a</sup>
HH72	79.12±0.28 <sup>ab</sup>	27.36±0.27 <sup>b</sup>	42.58±0.34 <sup>a</sup>	18.00±0.44 <sup>b</sup>
HL24	65.35±2.65 <sup>ef</sup>	25.28±0.47 <sup>d</sup>	34.54±0.39 <sup>e</sup>	15.86±0.19 <sup>f</sup>
HL48	69.85±2.29 <sup>d</sup>	23.99±0.45 <sup>c</sup>	34.67±0.15 <sup>c</sup>	16.90±0.11 <sup>c</sup>
HL72	68.02±0.29 <sup>de</sup>	24.24±0.24 <sup>e</sup>	36.16±0.10 <sup>d</sup>	16.46±0.19 <sup>de</sup>
LH24	77.02±0.58 <sup>bc</sup>	26.40±0.30 <sup>c</sup>	37.68±0.59 <sup>c</sup>	15.85±0.10 <sup>f</sup>
LH48	77.52±1.26 <sup>b</sup>	26.73±0.18 <sup>bc</sup>	37.24±0.20 <sup>c</sup>	16.44±0.19 <sup>de</sup>
LH72	78.68±1.53 <sup>ab</sup>	25.74±0.19 <sup>d</sup>	37.30±0.29 <sup>c</sup>	16.13±0.23 <sup>ef</sup>
LL24	62.68±0.58 <sup>f</sup>	22.79±0.46 <sup>f</sup>	29.77±0.23 <sup>f</sup>	15.17±0.12 <sup>g</sup>
LL48	62.85±2.78 <sup>f</sup>	25.32±0.15 <sup>d</sup>	29.85±0.32 <sup>f</sup>	14.43±0.10 <sup>h</sup>
LL72	74.18±0.58 <sup>c</sup>	21.75±0.42 <sup>g</sup>	30.30±0.19 <sup>f</sup>	14.76±0.04 <sup>h</sup>

<sup>1)</sup>HH: 70% CMC and conched at 60°C, HL: 70% CMC and conched at 50°C, LH: 60% CMC and conched at 60°C, LL: 60% CMC and conched at 50°C. The last numbers mean conching times (h).

<sup>2)</sup>ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), TPC: total phenolic content, DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, TFC: total flavonoid content.

<sup>3)</sup>All results are expressed as mean±SD (standard deviation) for three replicates. Different letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ) in the same column.

하는 것으로 분석되었다. 이러한 결과로부터 높은 카카오매스의 함량 외에 높은 콘칭 온도 및 시간 또한 커버춰의 항산화력을 높이는 데에 기여할 수 있음을 시사한다고 볼 수 있다.

**카카오닙의 주요 카테킨 중합체 함량**

카카오닙에는 다양한 플라보노이드가 함유되어 있는데 주로 catechin, epicatechin, procyanidin B1, procyanidin B2 등의 4가지 카테킨류 유도화합물이 90% 이상인 것으로 알려져 있다(25,26). 이에 따라 본 연구에서는 4가지의 화합물을 대상으로 HPLC 분석을 수행하였으며, 그 결과는 Table 8과 같다. 가열을 하지 않은 시료인 R0은 4가지 항목 모두에서 로스팅을 거친 시료들에 비해 높은 값을 보였다 ( $P<0.05$ ). 선행연구에 따르면 로스팅을 하지 않은 생시료의 epicatechin 함량은 함유되어 있는 주요 폴리페놀 화합물 함량의 약 35%에 달한다고 하였는데(27), 본 연구의 결과에서도 epicatechin의 함량이 4가지의 카테킨 유도화합물 함량 대비 35.24%인 것으로 분석되었으므로 서로 유사한 결과인 것으로 생각되었다. Procyanidin B1은 로스팅 시간의 경과에 따라 대체적으로 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. 로스팅 공정을 거친 시료군 내에서는 로스팅 시간이 25분 이내인 시료들의 procyanidin B2와 cat-

echin, epicatechin의 함량은 모두 유의적으로 증가하였으나, 30분간 로스팅한 시료(R30)는 유의적으로 감소하였다. 이와 같은 결과로 미루어볼 때 가열 공정이 카카오닙의 성분 변화를 유도한다는 것을 짐작할 수 있다. Catechin은 가열 공정을 거치게 되면 epicatechin으로부터 형질전환(epimerization)이 촉진되어 증가하는 경향을 보이게 된다(22). 반열풍 로스팅은 대부분의 논문에서 다루어왔던 직접적 로스팅과는 달리 뜨겁게 데워진 공기를 이용하기에 탈 염려가 적고, 따라서 항산화 물질의 손실 또한 줄일 수 있다는 장점이 있다. 또한 로스팅 공정은 procyanidin C1, procyanidin T2 등의 카테킨 유래 중합체의 가수분해 및 열분해를 촉진하는 것으로 알려져 있으므로(28), 25분의 로스팅 동안의 카테킨 유래 물질 상승의 원인일 것으로 판단된다. 하지만 R30의 경우 procyanidin B1을 제외한 모든 카테킨 유래 물질들의 함량이 감소하였으므로( $P<0.05$ ), 본 연구에서는 25분의 로스팅 시간이 카카오닙의 항산화 물질을 높이는 데에 가장 효과적인 것으로 사료되었다.

**커버춰의 주요 카테킨 중합체 함량**

콘칭 조건별 커버춰의 항산화 물질 정량 결과는 Table 9와 같다. Procyanidin B1은 콘칭 시간이 증가할수록 함량 또한 높아지는 경향을 보였으나, 60°C에서 콘칭을 거친 70

**Table 8.** Contents of the catechin-derived compounds of cacao nibs in different roasting conditions (unit: µg/g)

Samples <sup>1)</sup>	Procyanidin B1	Procyanidin B2	Catechin	Epicatechin	Total
R0	30.95±0.23 <sup>a2)</sup>	974.12±26.23 <sup>a</sup>	85.14±2.81 <sup>a</sup>	591.43±7.37 <sup>a</sup>	1,677.68±19.23 <sup>a</sup>
R15	10.28±1.75 <sup>b</sup>	230.90±9.40 <sup>d</sup>	24.86±0.76 <sup>c</sup>	99.44±3.40 <sup>c</sup>	365.47±13.51 <sup>e</sup>
R20	9.92±1.07 <sup>b</sup>	305.90±7.22 <sup>c</sup>	54.30±2.59 <sup>d</sup>	120.47±6.01 <sup>d</sup>	490.59±4.90 <sup>d</sup>
R25	9.64±1.40 <sup>b</sup>	394.29±6.59 <sup>b</sup>	73.31±2.63 <sup>b</sup>	192.27±7.10 <sup>b</sup>	669.51±14.27 <sup>b</sup>
R30	9.92±1.07 <sup>b</sup>	327.72±16.89 <sup>c</sup>	64.08±1.63 <sup>c</sup>	152.97±4.73 <sup>c</sup>	553.21±22.35 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>R0: raw cacao nib, R15: roasted at 200°C for 15 min, R20: roasted at 200°C for 20 min, R25: roasted at 200°C for 25 min, R30: roasted at 200°C for 30 min.

<sup>2)</sup>All results are expressed as mean±SD (standard deviation) for three replicates. Different letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ) in the same column.

**Table 9.** Contents of the catechin-derived compounds of couvertures in different conching conditions (unit: µg/g)

Samples <sup>1)</sup>	Procyanidin B1	Procyanidin B2	Catechin	Epicatechin	Total
HH24	22.18±1.12 <sup>2)</sup>	728.23±3.55 <sup>b</sup>	115.62±1.38 <sup>b</sup>	360.62±5.91 <sup>b</sup>	1,226.65±8.33 <sup>b</sup>
HH48	22.59±0.94 <sup>c</sup>	770.58±2.06 <sup>a</sup>	119.53±0.67 <sup>a</sup>	376.58±8.62 <sup>a</sup>	1,288.87±8.67 <sup>a</sup>
HH72	24.64±1.63 <sup>bc</sup>	657.51±5.40 <sup>c</sup>	102.25±3.33 <sup>de</sup>	327.87±3.84 <sup>c</sup>	1,112.28±5.58 <sup>d</sup>
HL24	22.40±0.67 <sup>c</sup>	606.45±4.30 <sup>f</sup>	94.42±1.74 <sup>e</sup>	252.39±7.72 <sup>h</sup>	972.51±12.65 <sup>g</sup>
HL48	30.23±0.63 <sup>a</sup>	718.09±18.13 <sup>b</sup>	110.58±0.59 <sup>c</sup>	297.97±0.86 <sup>c</sup>	1,156.87±18.39 <sup>c</sup>
HL72	25.82±0.40 <sup>b</sup>	651.04±11.87 <sup>cd</sup>	95.72±1.38 <sup>fg</sup>	273.95±0.81 <sup>g</sup>	1,046.52±10.90 <sup>ef</sup>
DH24	26.77±1.26 <sup>b</sup>	714.56±3.49 <sup>b</sup>	111.44±1.33 <sup>c</sup>	315.73±5.23 <sup>d</sup>	1,168.50±7.43 <sup>c</sup>
DH48	26.77±1.26 <sup>b</sup>	756.11±2.02 <sup>a</sup>	115.22±0.64 <sup>b</sup>	329.84±7.61 <sup>c</sup>	1,227.93±7.52 <sup>b</sup>
DH72	29.54±1.84 <sup>a</sup>	645.17±5.30 <sup>cd</sup>	98.55±3.22 <sup>ef</sup>	286.80±3.39 <sup>ef</sup>	1,060.06±5.92 <sup>e</sup>
DL24	18.31±1.02 <sup>d</sup>	618.05±11.60 <sup>ef</sup>	97.98±2.12 <sup>fg</sup>	287.79±3.11 <sup>ef</sup>	1,017.89±1.25 <sup>f</sup>
DL48	18.55±2.08 <sup>d</sup>	642.14±26.75 <sup>cd</sup>	103.22±2.99 <sup>d</sup>	288.94±4.73 <sup>ef</sup>	1,049.32±45.32 <sup>c</sup>
DL72	17.38±7.32 <sup>d</sup>	633.63±7.59 <sup>de</sup>	99.40±2.88 <sup>def</sup>	280.29±7.04 <sup>fg</sup>	1,031.56±19.40 <sup>ef</sup>

<sup>1)</sup>HH: 70% CMC and conched at 60°C, HL: 70% CMC and conched at 50°C, LH: 60% CMC and conched at 60°C, LL: 60% CMC and conched at 50°C. The last numbers mean conching times (h).

<sup>2)</sup>All results are expressed as mean±SD (standard deviation) for three replicates. Different letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ) in the same column.

% 카카오매스 함량(cacao mass content, CMC)의 시료군(HH군) 및 50°C에서 콘칭을 수행한 60% CMC의 시료군(LL군)에서는 유의적인 차이가 없었다. Procyanidin B2와 catechin, epicatechin은 모든 시료에서 48시간 동안 콘칭을 거친 시료가 유의적으로 높은 값을 보였으며, 60°C에서 48시간 동안 콘칭을 수행한 70% CMC의 시료(HH48)가 모든 시료들 중 가장 많은 카테킨 유래 항산화 물질을 함유한 것으로 나타났다. 선행연구에 따르면 로스팅 처리 후 껍질을 제거한 뒤 파쇄한 카카오닙을 볼 분쇄기(ball mill)를 이용하여 카카오 리퀴(cacao liquor)가 되도록 가공하는 동안 (-)-epicatechin과 (-)-epigallocatechin의 함량 감소가 일어난다고 하였다(29). 이는 본 연구의 HL군을 제외한 시료군들의 결과와 유사한 것으로 생각된다. 또한 같은 CMC 함량군 간에 비교하였을 때 60°C의 콘칭 온도가 50°C의 콘칭 온도보다 항산화 물질의 함량을 높이는 효과가 더 큰 것으로 나타났다. 이러한 결과는 상기한 커버춰의 항산화능이 높은 온도의 콘칭 조건에서 유래하였을 것으로 예상한 것과 같은 결과로 판단된다. 카카오버터를 제거한 초콜릿을 대상으로 실험실 단위에서의 콘칭을 수행한 경우 시간이 경과할수록 카테킨 유래 물질의 함량이 증가하였다고 보고한 연구(30)는 본 연구의 콘칭 시간의 경과에 따른 전체적인 증가 양상과 같은 맥락인 것으로 보인다. 하지만 본 연구에서는 60°C에서 콘칭을 수행한 70% CMC의 시료군(HL군)과 50°C에서 콘칭을 거친 60% CMC의 시료군(LH군)에서는 72시간의 콘칭 시 48시간 처리군보다 유효 성분의 함량이 감소하였으므로( $P < 0.05$ ), 기능성 물질을 최대화하기 위해서는 70% CMC의 조성으로 60°C에서 48시간 동안 콘칭을 거치는 것이 가장 바람직한 조건일 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 카카오닙을 제조하기 위한 카카오콩에 대한 반열풍식 로스팅 최적 조건을 탐색하고, 콘칭 온도(50, 60°C)와 시간(24, 48, 72 h)을 달리하여 제조한 커버춰의 항산화 활성의 차이를 분석함으로써 기능성 커버춰의 가공 조건에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다. 라디칼 소거능 및 기능성 성분의 함량 분석 결과 카카오닙은 모든 분석 항목에서 가열하지 않은 시료가 가장 높은 값을 나타냈다. 또한 로스팅 처리군 내에서는 로스팅 초기에는 급격히 감소하였으나 25분까지는 시간 경과에 따라 항산화능이 증가하였으므로, 항산화능의 크기는 대체로 R0(raw cacao nib), R25(200°C, 25분 로스팅한 시료), R30(200°C, 30분 로스팅한 시료), R20(200°C, 20분 로스팅한 시료), R15(200°C, 15분 로스팅한 시료)의 순으로 높은 것으로 분석되었다. 커버춰는 같은 카카오매스 함량(cacao mass content, CMC)의 시료 간에는 콘칭 온도가 높을수록 항산화능이 높게 측정되었다. 종합적으로 보았을 때 로스팅 및 콘칭 공정과 같은 가열 처리는 카카오닙의 기능성 성분의 조성 변화에 영향을

주었으며, DPPH를 제외한 ABTS, 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량의 결과는 서로 유사한 경향을 보였다. 또한 총 플라보노이드 함량을 제외한 나머지 실험 결과에서는 커버춰의 제작 시 총 플라보노이드 함량을 10% 높이는 것보다 콘칭 온도를 10°C 높이는 것이 항산화 능력을 더 많이 상승시키는 효과를 나타냈다. HPLC를 이용한 대표적인 카테킨 유래 화합물 정량 결과 카카오닙에서는 생시료가 4가지 항목 모두에서 로스팅을 거친 시료들에 비해 높은 값을 보였다( $P < 0.05$ ). Procyanidin B1은 군 간 유의적인 차이가 없었고, procyanidin B2와 catechin, epicatechin의 함량은 모두 로스팅 시간이 25분 이내인 경우에 증가하였으나, 30분 로스팅을 거친 시료(R30)는 감소하였다( $P < 0.05$ ). 따라서 200°C에서 25분 동안 로스팅을 처리한 시료(R25)가 기능성 성분을 가장 많이 함유한 것으로 분석되었다. 커버춰의 경우 대체로 콘칭 시간이 경과할수록 procyanidin B1의 함량이 증가하였다. Procyanidin B2와 catechin, epicatechin은 모든 시료에서 48시간 동안 콘칭을 거친 시료가 유의적으로 높은 값을 보였으므로, 60°C에서 48시간 동안 콘칭을 거친 70% CMC의 커버춰(HH48)가 모든 시료들 중 가장 많은 카테킨 유래 화합물을 함유한 것으로 나타났다.

## REFERENCES

- Beckett ST. 2008. *The science of chocolate*. 2nd ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. p 11-12.
- Herrmann K. 1995. Recent findings about cocoa ingredients. II: catechin, procyanidins, their oxidative condensation, and dietary fiber of peeled cacao. *Gordian* 95: 141-144.
- Payne MJ, Hurst WJ, Miller KB, Rank C, Stuart DA. 2010. Impact of fermentation, drying, roasting, and Dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *J Agric Food Chem* 58: 10518-10527.
- Lee ES, Kum JY, Hwang YO, Tu OJ, Jo HB, Kim JH, Chae YZ. 2012. Comparative study on antioxidant capacities and polyphenolic contents of commercially available cocoa-containing products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1356-1362.
- Ramli N, Hassan O, Said M, Samsudin W, Idris NA. 2006. Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted Malaysian cocoa beans. *J Food Process Preserv* 30: 280-298.
- Nascimento MS, Brum DM, Pena PO, Berto MI, Efraim P. 2012. Inactivation of *Salmonella* during cocoa roasting and chocolate conching. *Int J Food Microbiol* 159: 225-229.
- Lee HS. 2010. *Coffee roasting technique*. Seoul Commune, Seoul, Korea. p 8-100.
- Nebesny E, Rutkowski J. 1998. Effect of roasting and secondary fermentation on cocoa bean enrichment. *Pol J Food Nutr Sci* 3: 437-445.
- Oliviero T, Capuano E, Cämmerer B, Fogliano V. 2009. Influence of roasting on the antioxidant activity and HMF formation of a cocoa bean model systems. *J Agric Food Chem* 57: 147-152.
- Hoskin JM, Dimick PS. 1980. Observations of chocolate during conching by scanning electron microscopy and viscometry. *J Food Sci* 45: 1541-1545.
- Mattia CD, Martuscelli M, Sacchetti G, Beheydt B, Mastro-

- cola D, Pittia P. 2014. Effect of different conching processes on procyanidin content and antioxidant properties of chocolate. *Food Res Int* 63: 367-372.
12. Afoakwa EO. 2000. *Chocolate science and technology*. Wiley-Blackwell, Chichester, UK. p 43-47.
  13. Konar N. 2013. Influence of conching temperature and some bulk sweeteners on physical and rheological properties of prebiotic milk chocolate containing inulin. *Eur Food Res Technol* 236: 135-143.
  14. Wan Rosli WI. 1997. Effect of roasting temperature and time on precursors, volatile components and flavour quality of cocoa beans during nib roasting. *MS Thesis*. Universiti Putra Malaysia, Serdang, Malaysia. p 1-25.
  15. Duarte SMS, Abreu CMP, Menezes HC, Santos MH, Gouvea CMCP. 2005. Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *Ciênc Tecnol Aliment* 25: 387-393.
  16. Komes D, Belščak-Cvitanović A, Škrabal S, Vojvodić A, Bušić A. 2013. The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT—Food Sci Technol* 53: 360-369.
  17. Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem* 50: 3713-3717.
  18. Jeon G, Han J, Choi Y, Lee SM, Kim HT, Lee J. 2008. Antioxidant and antiproliferative activity of pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1079-1083.
  19. Singleton VL, Rossi Jr JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144-158.
  20. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
  21. Arlorio M, Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, Grosso ED, Minassi A, Appendino G, Martelli A. 2008. Roasting impact on the contents of clovamide (*N*-caffeoyl-*L*-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Food Chem* 106: 967-975.
  22. Jolić SM, Redovniković IR, Marković K, Šipušić DI, Delonga K. 2011. Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *Int J Food Sci Technol* 46: 1793-1800.
  23. Jinap MS, Nazamid BJS. 2004. Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during cocoa liquor roasting. *Food Chem* 85: 73-80.
  24. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem* 51: 7292-7295.
  25. Cooper KA, Donovan JL, Waterhouse AL, Williamson G. 2008. Cocoa and health: a decade of research. *Br J Nutr* 99: 1-11.
  26. Lamuela-Raventos RM, Izquierdo-Pulido M, Estruch R. 2013. Industrial and home processing of cocoa polyphenols. In *Chocolate in Health and Nutrition*. Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, eds. Humana Press, New York, NY, USA. Vol 7, p 119-122.
  27. Kim H, Keeney PG. 1984. Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. *J Food Sci* 49: 1090-1092.
  28. Dallas C, Ricardo-da-Silva JM, Laureano O. 1995. Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation. *Vitis* 34: 51-56.
  29. Ortega N, Romero MP, Macià A, Reguant J, Anglès N, Morelló JR, Motilva MJ. 2008. Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources. *J Agric Food Chem* 56: 9621-9627.
  30. Schumacher AB, Brandelli A, Schumacher EW, Macedo FC, Pieta L, Klug TV, Jong EV. 2009. Development and evaluation of a laboratory scale conch for chocolate production. *Int J Food Sci Technol* 44: 616-622.