JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۲، صفحات ۱۷۴-۱۶۱
DOI: 10.22101/jrifst.2020.212043.1133

بررسی مواد آرومای مطلوب و ترکیبات پلی‌فنولی کل در فرایند تولید پودر کاکائو

فریبا محمدی الستی[۱]، نارملا آصفی[۲*]، رامین ملکی[۳]، سیدصادق سیدلو هریس[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
* نویسندهٔ مسئول (n.asefi@iaut.ac.ir)
۳- استادیار، گروه کروماتوگرافی، پژوهشکده جهاد کشاورزی ارومیه، ارومیه، ایران
۴- دانشیار، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۸

واژه‌های کلیدی
آلکالیزاسیون
آلکیل‌پیرازین
برشته‌کردن
پلی‌فنول
پودر کاکائو

چکیده

پودر کاکائو و شکلات یکی از محبوب‌ترین ترکیبات مورداستفاده در محصولات غذایی می‌باشند. عطروطعم این محصولات در محبوبیت و مقبولیت مصرف‌کننده نقش مهمی دارد. پیرازین‌ها جزء ترکیبات اصلی گروه هتروسیکلیک، مواد فرار و اجزای کلیدی بو در عطر کاکائو می‌باشند. جهت ارزیابی اثر مراحل فرایند تولید پودر کاکائو در ایجاد ترکیبات با رایحهٔ مطلوب، از تمام مراحل خط تولید پودر کاکائوی حاصل از دانهٔ کامرون، نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها با روش کروماتوگرافی گازی طیف‌سنجی جرمی مورد تحلیل و آنالیز قرار گرفتند. نتایج نشان دادند مرحلهٔ آلکالیزاسیون جزء مراحل مهم و تأثیرگذار روی عطروطعم پودر کاکائو می‌باشد؛ لذا در ادامه، اثر سه نوع قلیا (سود، کربنات پتاسیم و بی‌کربنات آمونیوم) در غلظت‌های مختلف موردبررسی قرار گرفتند. داده‌ها بیان کردند که میزان مقادیر پلی‌فنول‌کل و آلکیل‌پیرازین‌های موردمطالعه، به‌طور معنی‌داری تغییر یافته است. پودر قلیایی‌نشده، مقادیر پلی‌فنول و نسبت تترامتیل‌پیرازین به تری‌متیل‌پیرازین (TMP/TrMP) بیشتری نسبت به پودر کاکائوی قلیایی‌شده، داشت. علاوه‌بر این، در نمونه‌های کاکائوی قلیایی، مقادیر پلی‌فنول و آلکیل‌پیرازین با افزایش غلظت قلیا کاهش یافتند. در غلظت یکسان، قلیاییت با محلول سود پلی‌فنول و نسبت TMP/TrMP بالاتر، اما آلکیل‌پیرازین پایین‌تری در مقایسه با قلیاییت با محلول کربنات پتاسیم تولید کرد. پودر کاکائو با قلیاییت سبک به‌وسیلهٔ محلول کربنات پتاسیم با pH معادل ۶/۸۹، بالاترین مقدار آلکیل‌پیرازین را تولید کرد.

مقدمه

پودر کاکائو در بسیاری از صنایع بخصوص در صنایع شکلات‌سازی اهمیت ویژه‌ای داشته و از مواد اصلی تشکیل‌دهندهٔ آنها می‌باشد. بنابراین کیفیت پودر کاکائو در کیفیت محصول نهایی نقش مهمی خواهد داشت. برای تهیهٔ پودر کاکائو، مغز دانهٔ کاکائو را آسیاب‌کرده و خمیر کاکائو به‌دست می‌آید. خمیر کاکائو در مرحلهٔ بعد تحت‌فشار مکانیکی قرارگرفته و با خروج قسمتی از چربی آن، کیک کاکائو حاصل می‌شود. سپس درنتیجهٔ پودرکردن باقی‌ماندهٔ کیک کاکائو به روش مکانیکی، پودر کاکائو به‌دست می‌آید (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۹۳). عطروطعم در مقبولیت دانهٔ کاکائو و محصولات کاکائو مانند شکلات به‌عنوان عامل اصلی محسوب می‌شود. عطروطعم ترکیبات موجود در دانه‌های

کاکائو درنتیجهٔ عواملی مانند نوع کاکائو (ژنوتیپ)، ترکیب دانه، نوع خاک، سن درخت کاکائو، تیمارهای پس‌ازبرداشت مانند مشروط‌کردن پالپ، تخمیر و خشک‌کردن و فرایندهای صنعتی مانند بودادن، قلیایی‌کردن و همچنین ذخیره‌سازی و حمل‌ونقل تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد. درحال‌حاضر، بیش از ۶۰۰ ترکیب فرار عطروطعم از دانه‌های کاکائو و محصولات کاکائو شناسایی‌شده است. این مواد از ترکیبات هتروسیکلیک[1] نیتروژن و اکسیژن، آلدئیدها و کتون‌ها، استرها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، نیتریل‌ها و سولفیدها، پیرازین‌ها[2]، اترها، فوران‌ها[3]، تیازول‌ها[4]، پیرون‌ها[5]، اسیدها، فنل‌ها، ایمین‌ها، آمین‌ها، اکسازول‌ها[6] و پیرول‌ها[7] تشکیل می‌شود (Ziegleder, 2009). بسیاری از این ترکیبات دارای ویژگی عطروطعم خاصی می‌باشند. خیلی از استرها یک ویژگی خاص عطر میوه و گل‌مانند را می‌دهند (Kongor *et al.*, 2016).

عطروطعم ترکیبات موجود در دانه‌های کاکائو، در طول عمل بودادن از عطروطعم پیش‌سازهای تولیدشده در طی فرایند تخمیر و خشک‌کردن تشکیل می‌شود (Crafack *et al.*, 2014). فرایند قلیایی‌کردن شامل قلیایی‌کردن تودهٔ کاکائو، عصاره یا پودر می‌باشد. همچنین این عمل را می‌توان قبل از بودادن انجام داد (Nair, 2010). قلیایی‌کردن اسیدیتهٔ طبیعی کاکائو را خنثی می‌کند، pH را تا حدود ۷-۸ افزایش داده، رنگ آن را تیره کرده و اسیدیته و طعم گسی آن را کاهش می‌دهد. امروزه، قلیایی‌کردن را به‌منظور بهبود رنگ، عطروطعم کاکائو و افزایش توانایی دیسپرسیون (پراکندگی) ذرات پودر کاکائو در نوشابه انجام می‌دهند (Giacometti, Jolić, & Josić, 2015; Kothe, Zimmermann, & Galensa, 2013; Mazor Jolić, Radojčić Redovniković, Marković, Ivanec Šipušić, & Delonga, 2011).

با قلیایی‌کردن دانهٔ کاکائو و تغییر pH، شرایط بیشتری برای انجام واکنش میلارد در طی بودادن ایجادشده و با دخالت قندهای احیاکننده (گلوکز)، عطروطعم بهتری برای ترکیبات آمادوری در واکنش میلارد به‌دست می‌آید، همچنین واکنش بین پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، پلی‌فنل‌ها و محصولات میلارد بیشتر می‌شود. آلدئیدها، کتون‌ها، استرها، آلکان‌ها، فوران‌ها و ترکیبات حاوی بنزن بعد از یک قلیاییت سبک افزایش می‌یابد (Bonvehí & Coll, 2000; Li *et al.*, 2014; Serra Bonvehí & Ventura Coll, 2002). آلکیل‌پیرازین‌ها[8] جزء ترکیبات اصلی و کلیدی بو در عطروطعم کاکائو می‌باشند. آنها عطر فندقی، خاکی، برشته و رایحهٔ سبز نشان می‌دهند. در حدود ۸۰ پیرازین در طعم نهایی کاکائو شرکت می‌کنند. تترامتیل‌پیرازین[9] و تری‌متیل‌پیرازین[10] جزء مهم‌ترین ترکیبات این گروه هستند (Aprotosoaie, Luca, & Miron, 2016). دما و مدت زمان فرایندهای حرارتی از عوامل مؤثر بر غلظت پیرازین‌ها می‌باشند (Ziegleder, 2009). قلیایی‌کردن باعث می‌شود که مقدار بیشتری ترکیبات پیش‌ساز برای ایجاد آلکیل‌پیرازین تولید شود درنتیجه آلکیل‌پیرازین بیشتری نسبت به pH پایین تولید می‌شود. به‌عبارت‌دیگر شرایطی که باعث بهبود انجام واکنش میلارد می‌شود، مواد فرار را نیز افزایش می‌دهد (Huang & Barringer, 2010).

دانهٔ کاکائو و همچنین محصولات مشتق‌شده از کاکائو، منبع غنی از پلی‌فنل‌ها را ارائه می‌دهند. مسئلهٔ مهم و قابل‌توجه در محصولات قلیایی‌شدهٔ کاکائو، تغییر و تجزیهٔ پلی‌فنل‌ها و متیل‌گزانتین‌ها در اثر pH قلیایی می‌باشد. گزارش‌شده است که در طول تخمیر و بودادن دانهٔ کاکائو پلی‌فنول‌ها، کاتچین و اپی‌کاتچین به ترکیبات کینون‌ها اکسید می‌شود و کینون‌ها با اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها ترکیب و یا با سایر ترکیبات فلاونوئیدی پلیمریزه می‌شوند (Niemenak, Rohsius, Elwers, Ndoumou, & Lieberei, 2006). بدین‌ترتیب، پودر کاکائو دارای طعم گسی کمتر، مقدار پلی‌فنول پایین‌تر و رنگ تیره‌تر خواهد شد (Li *et al.*, 2014).

در طی فرایند تبدیل دانهٔ کاکائو به پودر کاکائو، مشکل کاهش عطروطعم مطلوب و ایجاد بوهای نامطلوب مانند دود سیگاری و همچنین بو و طعم قلیایی مطرح می‌باشد. گمان می‌رود فرایندهای حرارتی بالا در ایجاد بوهای نامطلوب در محصول و کاهش عطروطعم مطلوب نقش داشته باشند. دراین‌راستا در مطالعهٔ حاضر سعی بر آن شد که پژوهشی در خصوص علل کاهش عطروطعم پودر کاکائو انجام گردد. زیرا شرکت‌های تولیدکنندهٔ پودر کاکائو در ایران با مشکل مذکور مواجه‌بوده و برای ایجاد عطروطعم، مجدداً ملزم به

[1] Heterocyclic
[2] Pyrazines
[3] Furans
[4] Thiazoles
[5] Pyrones
[6] Oxazoles
[7] Pyrroles
[8] Alkylpyrazines
[9] Tetramethylpyrazine
[10] Trimethylpyrazine

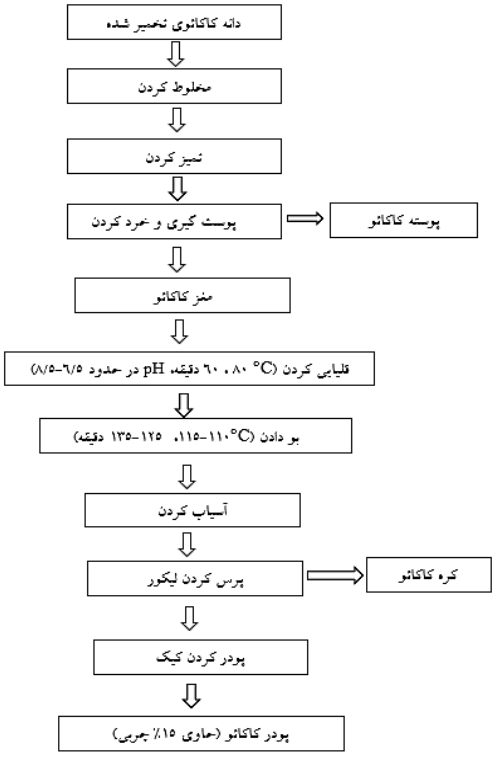
افزودن مواد معطر می‌باشند. بنابراین ترکیبات فرار عطروطعم در طی فرایند تولید پودر کاکائو در شرکت شیرین عسل موردبررسی واقع شد، باتوجه‌به اینکه فرایند قلیایی‌کردن یکی از مهم‌ترین فرایندهای مؤثر بر خواص کیفی ازجمله عطروطعم محصول نهایی می‌باشد، بنابراین ترکیبات آلکیل‌پیرازینی در شرایط مختلف فرایند قلیایی‌کردن موردبررسی قرارگرفته و نحوهٔ دقیق فرایند و مشخصه‌های موردنظر که روی عطروطعم محصول نهایی، در فرایند قلیایی‌کردن تاثیرگذار می‌باشند، مشخص گردید.

مواد و روش‌ها

در مطالعهٔ حاضر از دانهٔ کاکائوی کامرون (ارقام فارستو[1]) استفاده شد. دانه‌های کاکائو (تخمیرشده، خشک و بوجاری‌شده) از شرکت صنعتی شیرین عسل (تبریز، ساخت ایران) تهیه شد. کربنات پتاسیم (K_2CO_3)، هیدروکسید سدیم (NaOH)، بی‌کربنات‌آمونیوم (NH_4HCO_3)، n-هگزان، اسید استیک، اسید گالیک، متانول، اسید فرمیک، استون، کربنات سدیم (Na_2CO_3)، معرف فولین سیوکالتو[2] و سایر معرف‌های تجزیه‌ای از شرکت شیمیایی سیگما (شرکت سیگما-آلدریچ، ساخت آمریکا) خریداری شد.

روش تولید

پژوهش حاضر طی دو فاز انجام گرفت؛ فاز اول: بررسی خط تولید پودر کاکائوی شرکت شیرین عسل: در شرکت شیرین عسل دانهٔ کاکائو از مزارع کشور کامرون تهیه می‌شود، عملیات تخمیر در مزارع کشور مبدأ انجام می‌گیرد. مراحل تولید پودر کاکائو به شرح زیر می‌باشد؛ مرحلهٔ تمیزکردن: پس از تمیزکردن و ذخیره‌سازی دانه ها، خشک‌کردن اولیه (با جریان هوای داغ ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۲۰ ثانیه) صورت می‌گیرد. فرایند بوجاری، شکستن دانه‌ها و طبقه‌بندی: جهت جداشدن پوسته که به‌این‌ترتیب مغز حاصل می‌شود. فرایند آلکالیزاسیون: عمل قلیایی‌شدن با محلول کربنات پتاسیم (نسبت دانه به محلول ۳۰۰۰:۱۰۰) تحت بخار با فشار ۳ بار و به مدت ۸۰ دقیقه انجام می‌شود. فرایند بودادن: (رطوبت دانه از ۱۸ درصد (بعد آلکالیزاسیون) به ۱/۵-۲ درصد می‌رسد)، (دما ۱۱۰-۱۱۵ درجهٔ سانتی گراد و به مدت ۱۲۵-۱۳۵ دقیقه). آسیاب‌کردن تحت فرایند دو مرحله‌ای: الف) مرحلهٔ آسیاب: اندازهٔ ذرات به ۲۵۰-۲۰۰ میکرون می‌رسد. ب) مرحلهٔ سنگی: اندازهٔ ذرات به ۴۵-۳۵ میکرون می‌رسد. ماده ای که از مخازن آسیاب خارج می‌شود، عصاره می‌باشد. مرحلهٔ پرس: عصارهٔ خروجی حداقل تا ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد گرم می‌شود و سپس تحت عمل پرس (فشار هیدرولیکی) قرار می‌گیرد، بدین‌ترتیب کرهٔ کاکائو و کیک کاکائو به‌دست می‌آید. کیک کاکائو با ضربات چکشی دستگاه به ذرات ۳-۲ سانتی‌متری خرد می‌شود. کیک کاکائو تحت عمل آسیاب‌کردن به شکل پودر درآمده و توسط سیستم استابلیزر (نقالهٔ حلزونی) عمل تمپرینگ انجام می‌شود تا کیفیت مناسب و رنگ مناسب پودر کاکائو حفظ شود. عمل بسته‌بندی محصول نهایی انجام می‌گیرد. پروسهٔ تبدیل دانهٔ کاکائو به پودر شرکت شیرین عسل، طبق شکل (۱) نشان داده شده است. نمونه‌های ۲۵ گرمی از مراحل مختلف تهیهٔ پودر کاکائو (دانهٔ خام، آلکالیزاسیون، بودادن، آسیاب‌کردن، پرس و پودر) تهیه شد. نمونه‌ها در یک آسیاب آزمایشگاهی (مدل Ika، ساخت آلمان) به پودر تبدیل‌شده و تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.



شکل ۱- مراحل تهیهٔ پودر کاکائو (شرکت شیرین عسل)

فاز دوم: دانه‌های کاکائو کامرون تحت تمیزکردن، خشک‌کردن در ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد، پوست‌کنی و

[1] *Forastero*
[2] Folin-Ciocalteu

خردکنی برای تبدیل‌شدن به مغز کاکائو (nib) قرار گرفتند، این عملیات در شرکت شیرین عسل انجام گرفت، سپس مطابق جدول (۱) در غلظت‌ها و ترکیب‌های مختلف با محلول‌های NaOH، K_2CO_3 و NH_4HCO_3 قلیایی شدند. مغزهای کاکائوی قلیایی‌شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد بوداده شدند. نمونه‌ها در یک آسیاب آزمایشگاهی به پودر تبدیل‌شده و تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱- معرفی تیمارهای تهیه‌شده در شرایط قلیایی مختلف

نمونه	درجهٔ آلکالیزاسیون
A_0	پودر کاکائوی بدون قلیا (pH:۵/۲-۵/۶)
	پودر کاکائو با قلیاییت سبک یا متوسط (۶/۵<pH<۷/۶)
A_1	قلیاییت با محلول NaOH ۱ درصد
A_2	قلیاییت با محلول K_2CO_3 ۱ درصد
A_3	قلیاییت با محلول NaOH ۱/۵ درصد و K_2CO_3 ۰/۵ درصد
A_4	قلیاییت با محلول NaOH ۱ درصد و K_2CO_3 ۱ درصد
A_5	قلیاییت با محلول NaOH ۰/۵ درصد و K_2CO_3 ۱/۵ درصد
A_6	قلیاییت با محلول NaOH ۱/۵ درصد و NH_4HCO_3 ۰/۵ درصد
A_7	قلیاییت با محلول K_2CO_3 ۱/۵ درصد و NH_4HCO_3 ۰/۵ درصد
	پودر کاکائو با قلیاییت سنگین (pH≥۷/۶)
A_8	قلیاییت با محلول NaOH ۳ درصد
A_9	قلیاییت با محلول K_2CO_3 ۳ درصد

اندازه‌گیری ترکیبات پلی‌فنول‌کل

مقدار ترکیبات پلی‌فنول‌کل تیمارهای تهیه‌شده در شرایط قلیایی مختلف با معرف سیوکالتو طبق روش Li و همکاران (۲۰۱۴) اندازه‌گیری شد. مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر (مدل HACH، ساخت امریکا) اندازه‌گیری شد. مقدار پلی‌فنول برحسب اکی‌والان اسیدگالیک به‌صورت میلی‌گرم بر گرم بیان شد.

اندازه‌گیری ترکیبات پیرازینی

استخراج ترکیبات عطروطعم فرار

۲۵ گرم از نمونه‌های فاز اول (نمونه‌های برداشت‌شده از مراحل مختلف فرایند تولید پودر کاکائوی شیرین عسل) و تیمارهای پودرشدهٔ فاز دوم (نمونه‌های تهیه‌شده در شرایط قلیایی مختلف) به آب‌مقطر (۲۰۰ میلی‌لیتر) اضافه شد، ۲ میلی‌لیتر هگزان نرمال به بالن حاوی نمونهٔ محلول اضافه شد و با استفاده از روش استخراج کلونجر طبق روش Schultz، Flath، Mon، Eggling و Teranishi (۱۹۷۷) حرارت داده شد. ترکیبات عطروطعم فرار در هگزان (۲ میلی‌لیتر) به‌دام‌افتاد. ۱ میکرولیتر از آنها روی کروماتوگرافی گازی طیف‌سنجی جرمی (مارک Agilent، ساخت آمریکا) موردبررسی قرار گرفت، درمورد نمونه‌های فاز اول، ارزیابی ترکیبات فرار عطروطعم انجام گرفت و درمورد تیمارهای فاز دوم، اندازه‌گیری مقادیر ترکیبات آلکیل‌پیرازین (۲-متیل‌پیرازین، ۳،۲-دی‌متیل‌پیرازین، ۵،۲-دی‌متیل‌پیرازین، ۵،۳،۲-تری‌متیل‌پیرازین و ۶،۵،۳،۲-تترامتیل پیرازین) به‌عمل آمد، قبلاً استاندارد ۵ ترکیب پیرازینی موردنظر به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شده بود.

مشخصات دستگاه GC-MS

یک دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent 7890A، ساخت آمریکا) مجهز به آشکارساز جرمی (مدل Agilent 5975 C، نرم‌افزار HP Chemstation در محیط ویندوز و اینجکتور با مد split/splitless و ستون مویین HP-5 MS با طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر از شرکت Agilent، ساخت آمریکا). دمای اولیهٔ آون در ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه نگه‌داشته‌شده و بعد با سرعت ۸ درجهٔ سانتی‌گراد بر دقیقه تا ۱۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش می‌یابد و ۳ دقیقه در همان دما می‌ماند. از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل استفاده گردید. جریان گاز حامل ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. دریچهٔ تزریق در مد Split با نسبت ۱:۵۰۰ و گسترهٔ رنج جرمی از ۴۰ تا ۵۰۰ جرم بر بار می‌باشد. به‌منظور شناسایی ترکیبات از کتابخانهٔ جرمی (Wily ۲۰۰۷ و NIST ۲۰۰۵) موجود در دستگاه استفاده شد. دمای دریچهٔ تزریق در ۲۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم‌شده بود. پردازش داده‌های دستگاه با استفاده از نرم‌افزار Chemstation در محیط ویندوز انجام شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

آزمایش‌های کیفی در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD[1]) انجام شدند. تجزیه‌وتحلیل واریانس (ANOVA[2]) با استفاده از نرم‌افزار آماری Mstatc نسخهٔ ۱.۱.۰ انجام شد. از آزمون دانکن برای مقایسهٔ تفاوت بین

[1] Completely randomized design
[2] Analysis of variance

میانگین مقادیر در سطح معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) استفاده شد.

نتایج و بحث

بررسی نتایج ارزیابی ترکیبات عطروطعم فرار از مراحل مختلف خط تولید پودر کاکائو

باتوجه‌به جدول (۲) فرایند بودادن و آلکالیزاسیون جزء مراحل مهم در توسعهٔ عطروطعم محصولات کاکائویی می‌باشند. بسیاری از ترکیبات معطر فرار بعد از فرایند بودادن در اثر واکنش میلارد ایجادشده و این ترکیبات همچنان در مراحل بعدی حفظ و در پودر کاکائو آشکار گردید. آلکالیزاسیون دانهٔ کاکائو با تغییر pH در واکنش میلارد مؤثر می‌باشد، همچنین فرایند بودادن با ایجاد دمای بالا، واکنش بین پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، پلی‌فنول‌ها و محصولات میلارد را بهبود می‌بخشد (Afoakwa, Paterson, Fowler, & Ryan, 2008; Farah & Zaibunnisa, 2012).

جدول ۲- برخی ترکیبات فرار مطلوب موجود در عطروطعم در مراحل مختلف خط تولید پودر کاکائوی شیرین عسل (درصد وزنی)*

ترکیبات	R.T**	دانهٔ کاکائو	آلکالیزاسیون	بودادن	آسیاب‌کردن	پرس‌کردن	پودر کاکائو
Alcohols							
Linalool	۹/۴۹	۰/۰۵±۰/۰۱^{c}	۰/۰۵±۰/۱۵^{b}	۱/۰۵±۰/۲۰^{a}	۱/۰۹±۰/۱۰^{a}	۱/۱۳±۰/۱۳^{ac}	۱/۳۸±۰/۱۸^{a}
2- Hexanol	۴/۶۱	۰/۰۳±۰/۰۲^{a}	۰/۰۳±۰/۰۲^{a}	۰/۰۵±۰/۰۴^{a}	۰/۰۵±۰/۰۴^{a}	۰/۰۶±۰/۰۴^{c}	۰/۰۵±۰/۰۱^{a}
1-Hexanol	۴/۵۵	۰/۰۲±۰/۰۱^{a}	۰/۰۳±۰/۰۲^{a}	۰/۰۵±۰/۰۴^{a}	۰/۰۶±۰/۰۴^{a}	۰/۰۶±۰/۰۴^{c}	۰/۰۴±۰/۰۲^{a}
Aldehydes							
Benzaldehyde	۶/۰۴	۰/۳۸±۰/۱۶^{d}	۰/۵۶±۰/۲۰^{d}	۰/۸۰±۰/۳۲^{cd}	۱/۴۰±۰/۲۰^{bc}	۱/۷۰±۰/۲۰^{c}	۴/۶۷±۰/۳۳^{a}
Phenylacetaldehyde	۸/۰۵	۰/۱۰±۰/۰۲^{d}	۱/۱۰±۰/۰۱^{c}	۲/۰۲±۰/۲۰^{b}	۲/۱۷±۰/۱۷^{b}	۳/۹۷±۰/۴۰^{c}	۴/۲۱±۰/۳۰^{a}
5-methyl -2-Phenyl -2-hexenal	۱۹/۸۱	-	-	۰/۴۲±۰/۳۰^{b}	۰/۹۶±۰/۳۰^{b}	۲/۶۸±۰/۱۰^{c}	۲/۱۶±۰/۳۰^{a}
2-hexenal	۳۶/۰۶	۰/۱۶±۰/۰۵^{c}	-	۰/۴۰±۰/۲۵^{bg}	۱/۳۰±۰/۲۰^{a}	۰/۷۰±۰/۳۰^{c}	۰/۹۲±۰/۳۵^{ab}
Esters							
Isoamyl acetate	۴/۲۹	۰/۲۳±۰/۱۰^{b}	-	۱/۶۶±۰/۱۰^{a}	۱/۶۰±۰/۲۰^{a}	۱/۲۳±۰/۲۳^{ab}	۱/۵۳±۰/۲۳^{a}
2-Phenethyl acetate	۱۳/۷۸	۰/۱۷±۰/۱۰^{c}	۰/۱۸±۰/۱۰^{c}	۰/۵۵±۰/۶۷^{c}	۱/۷۰±۰/۰۲^{b}	۲/۵۰±۰/۱۵^{a}	۲/۶۸±۰/۲۰^{a}
Isobutyl benzoate	۱۷/۴۰	۰/۳۸±۰/۰۷^{b}	-	۳/۳۰±۰/۳۰^{a}	۳/۵۰±۰/۲۵^{a}	۳/۶۰±۰/۲۰^{a}	۳/۲۲±۰/۲۲^{a}
Ethyl laurate	۲۲/۲۱	۰/۰۷±۰/۰۲^{c}	-	۱/۱۰±۰/۱۰^{b}	۱/۲۸±۰/۲۸^{ab}	۱/۰۶±۰/۰۶^{b}	۱/۶۲±۰/۲۰^{a}
Ketones							
2-Heptanone	۴/۵۹	-	-	۰/۳۸±۰/۱۰^{a}	۰/۲۸±۰/۱۵^{a}	۰/۲۷±۰/۱۰^{a}	۰/۲۶±۰/۲۰^{a}
Acetophenon	۸/۶۴	-	-	۰/۵۳±۰/۲۱^{a}	۰/۵۰±۰/۱۵^{a}	۰/۷۸±۰/۲۰^{a}	۰/۷۷±۰/۲۰^{a}
Methyl heptyl ketone	۹/۲۸	۰/۱۴±۰/۰۷^{b}	-	۰/۹۷±۰/۴۰^{a}	۰/۹۵±۰/۰۵^{a}	۱/۰۰±۰/۱۰^{a}	۰/۹۰±۰/۳۰^{a}
2-Pentadecanone	۲۹/۳۰	-	-	۱/۱۳±۰/۱۵^{b}	۰/۹۸±۰/۲۰^{b}	۱/۰۴±۰/۲۰^{b}	۱/۵۲±۰/۲۰^{a}
Pyrazines							
2-Ethyl-3-methylpyrazine	۶/۹۰	-	۰/۲۱±۰/۲۰^{b}	۰/۲۳±۰/۱۰^{b}	۰/۲۵±۰/۲۰^{a}	۰/۳۱±۰/۱۰^{a}	۰/۲۶±۰/۲۰^{a}
2,3,5,6 Tetramethylpyrazine	۹/۱۵	۰/۵۰±۰/۱۰^{c}	۰/۳۰±۰/۲۰^{c}	۱/۹۶±۰/۲۰^{b}	۲/۹۰±۰/۲۰^{a}	۳/۰۰±۰/۱۰^{a}	۲/۶۹±۰/۲۰^{a}
2,5-Dimethylpyrazine	۱۳/۴۶	-	-	۰/۳۰±۰/۲۰^{a}	۰/۳۱±۰/۱۰^{a}	۰/۳۷±۰/۱۷^{a}	۰/۲۳±۰/۱۳^{a}
2,3,5-Trimethylpyrazine	۱۴/۳۲	۰/۰۵±۰/۰۴^{b}	-	۰/۰۹±۰/۰۴^{b}	۰/۷۳±۰/۲۰^{a}	۰/۷۴±۰/۲۰^{a}	۰/۶۶±۰/۳۳^{a}
Pyrrole							
1H-Pyrrole, 1-pentyl	۸/۳۱	-	۰/۶۲±۰/۲۰	-	-	-	-
Indole (1H-Indole)	۱۴/۷۷	-	۰/۵۲±۰/۲۰^{a}	-	-	۰/۲۹±۰/۲۰^{a}	-

* اعداد، میانگین ± انحراف معیار از سه تکرار می‌باشد.

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq$۰/۰۱).

** زمان بازداری در دستگاه GC-MS (دقیقه)

بسیاری از مواد معطر بی‌نظیر شامل الکل‌ها، اسیدها، آلدئیدها، استرها، کتون‌ها، پیرازین‌ها و ترکیبات پیرولی در جدول (۲) نشان داده شده است که طبق مطالعه‌های قبلی، مؤثرترین ترکیبات ایجادکنندهٔ عطروطعم در محصولات کاکائو می‌باشند. باتوجه‌به داده‌های جدول (۲)، از بین ترکیبات معطر فرار، پیرازین‌ها و استرها دو گروه عمده می‌باشند که در عطروطعم کاکائو نقش بسزایی دارند (Rodriguez-Campos, Escalona-Buendía, Orozco-Avila, Lugo-Cervantes, & Jaramillo-Flores, 2011). ترکیبات پیرازینی بخصوص ترکیب تترامتیل‌پیرازین به‌عنوان شاخص ترکیبات عطروطعم در دانهٔ کاکائوی بوداده‌شده شناخته‌شده است (Zyzelewicz *et al.*, 2018). در این تحقیق، درصد وزنی تترامتیل‌پیرازین در دانهٔ کاکائو در حدود ۰/۵ درصد بود، درحالی‌که مقدار آن در پودر کاکائو به ۲/۶۹ درصد رسید. در بین مراحل مختلف فرایند، بیشترین درصد افزایش تترامتیل‌پیرازین در مرحلهٔ بودادن مشاهده شد. همان‌طورکه در جدول (۲) مشاهده شد، در مرحلهٔ آلکالیزاسیون، بعضی از ترکیبات استری موجود در دانهٔ کاکائو مانند ایزوآمیل‌استات، ایزوبوتیل‌بنزوات و اتیل‌لورات ناپدید شدند، درحالی‌که در مرحلهٔ بودادن دوباره این ترکیبات ظاهر شدند، این امر نشان می‌دهد که مقدار زیادی از ترکیبات استری در اثر واکنش میلارد در مرحلهٔ بودادن تشکیل و در فرایندهای بعدی حفظ‌شده و درنهایت در ترکیبات پودر کاکائو نیز مشاهده شدند. در مقایسه با سایر استرها، ایزوبوتیل بنزوات در پودر کاکائو بیشترین مقدار (۳/۲۲ درصد) را نشان داد.

باتوجه‌به جدول (۳) ترکیباتی از قبیل بنزآلدئید، فنیل‌استالدئید و ۲- هگزنال در دانهٔ کاکائو مشاهده شد، اما ۵-متیل-۲-فنیل-۲-هگزنال در دانهٔ کاکائو یافت نشد، این ترکیب بعد از فرایند بودادن ازطریق واکنش میلارد تشکیل شد. ترکیبات آلدئیدی و کتونی برای توسعهٔ عطروطعم مطلوب کاکائو نقش مؤثری دارند، این ترکیبات معمولاً در هنگام بودادن از تجزیهٔ استرکر اسیدهای آمینهٔ آزاد مشتق می‌شوند (Rodriguez-Campos *et al.*, 2011). همان‌طورکه در جدول (۲) مشاهده می‌شود بسیاری از ترکیبات کتونی بعد از مرحلهٔ بودادن تشکیل شده است.

لینالول و ۲-فنیل‌اتانول مهم‌ترین الکل‌های موجود در دانه‌های کاکائوی بوداده‌شده، می‌باشند (Jinap, Rosli, Russly, & Nordin, 1998). در این تحقیق، ترکیب ۲-فنیل‌اتانول در نمونه‌های موردآزمایش، مشاهده نشد. نسبت مقدار ترکیب لینالول به ترکیب بنزآلدئید می‌تواند به‌عنوان شاخص عطروطعم استفاده شود. اگر مقدار عددی این نسبت بیشتر از ۰/۳ باشد نشان‌دهندهٔ کیفیت مطلوب دانه‌های کاکائو می‌باشد (Ziegleder, 2009)، که در این مطالعه، مقدار عددی شاخص عطروطعم حدود ۰/۳ بود.

محققین گزارش کردند که در فرایند بودادن میزان ترکیبات الکلی، در اثر افزایش دما کاهش می‌یابد که علت آن، فرار یا ازبین‌رفتن الکل‌ها در هنگام بودادن می‌باشد (Jinap *et al.*, 1998). ولی در این مطالعه، باتوجه‌به داده‌های جدول (۲) و همچنین به‌دلیل دمای نسبتاً پایین طی فرایند بودادن، کاهش ترکیبات الکلی مشاهده نشد. در بین ترکیبات الکلی، مقدار لینالول در سطح معنی‌داری بیشتر از سایر ترکیبات الکلی بود (P≤۰/۰۱). در جدول (۲) تعدادی از ترکیبات پیرولی موجود در نمونه‌ها نیز نشان داده شده است. ترکیبات پیرولی در مراحل خشک‌کردن و بودادن، ازطریق تجزیهٔ استرکر و واکنش میلارد با استفاده از اسید آمینهٔ پرولین تشکیل می‌شوند. این ترکیبات عطروطعم مطلوب کاراملی، شکلاتی و برشته‌ای ایجاد می‌کنند (Rodriguez-Campos *et al.*, 2011).

در جدول (۳) ترکیبات فراری که به‌عنوان ترکیبات دارای عطروطعم نامطلوب برای دانه‌های کاکائو محسوب می‌شوند، گزارش شده است، به‌عنوان مثال ترکیبات آلکانی از این گروه می‌باشند. ترکیبات آلکانی در برخی از ارقام دانهٔ کاکائو دیده می‌شوند. وجود این ترکیبات در مقادیر بالا، باعث می‌شود تا بوی ترکیبات آرومای فرار مطلوب، نامحسوس باشد.

جدول ۳- برخی ترکیبات فرار نامطلوب موجود در عطروطعم در مراحل مختلف خط تولید پودر کاکائوی شیرین عسل (درصد وزنی)*

ترکیبات	R.T**	دانهٔ کاکائو	آلکالیزاسیون	بودادن	آسیاب‌کردن	پرس‌کردن	پودر کاکائو
Alcohols							
1-Hexanol	۲۴/۵۶	۰/۰۵±۰/۰۲^{b}	۰/۰۷±۰/۰۱^{b}	۰/۸۹±۰/۱۰^{a}	۰/۰۹±۰/۰۱^{b}	۱/۰۰±۰/۳۰^{a}	۰/۰۹±۰/۰۲^{b}
Esters							
Ethyl myristate	۲۶/۷۹	۰/۰۸±۰/۰۲^{b}	-	۱/۳۰ ۰/۲۰^{a}	۱/۴۰±۰/۲۰^{a}	۱/۲۳±۰/۲۰^{a}	۱/۴۳±۰/۲۰^{a}
Methyl palmitate	۳۰/۷۳	۰/۵۲±۰/۲۰^{d}	۰/۵۷±۰/۳۰^{d}	۱/۲۰±۰/۱۵^{a}	۳/۳۰±۰/۱۰^{c}	۴/۰۶±۰/۳۵^{b}	۴/۲۰±۰/۱۰^{a}
Methyl stearate	۳۲/۴۷	۰/۳۸±۰/۰۱^{b}	-	۳/۳۰±۰/۱۰^{a}	۳/۵۰±۰/۲۰^{a}	۳/۶۰±۰/۲۰^{a}	۳/۲۲±۰/۲۲^{a}
Ethyl Oleate	۳۲/۹۶	-	۰/۴۳±۰/۱۰^{d}	۱/۵۰±۰/۲۰^{c}	۴/۷۰±۰/۲۰^{b}	۴/۸۰±۰/۲۰^{b}	۵/۲۰±۰/۱۰^{a}
Acids							
Oleic acid	۳۲/۶۶	۱۳/۲۳±۱/۰۰^{a}	۰/۶۶±۰/۱۰^{d}	۳/۸۳±۰/۱۰^{b}	۳/۴۵±۰/۴۵^{bc}	۲/۳۸±۰/۲۰^{c}	۰/۶۶±۰/۲۰^{d}
Palmitic acid	۲۹/۶۴	۱۵/۸۹±۱/۰۰^{a}	۱/۹۳±۰/۲۰^{c}	۷/۲۰±۱/۰۰^{b}	۶/۸۰±۱/۰۰^{b}	۶/۷۰±۰/۲۰^{b}	۷/۱۰±۰/۱۰^{b}
Stearic acid	۳۲/۸۹	۵/۰۱±۰/۲۰^{a}	۰/۶۶±۰/۲۰^{d}	۴/۰۴±۰/۲۰^{b}	۳/۵۰±۰/۲۰^{c}	۳/۶۰±۰/۲۰^{bc}	۳/۸۰±۰/۲۰^{bc}
Alkanes							
Nonane	۴/۷۱	۰/۰۷±۰/۰۱^{bc}	۰/۰۳±۰/۰۲^{c}	۰/۳۰±۰/۲۰^{ab}	۰/۳۵±۰/۲۰^{a}	۰/۳۳±۰/۲۱^{a}	۰/۴۰±۰/۲۰^{a}
Nonadecane	۲۹/۱۵	۷/۵۴±۰/۲۰^{b}	۱۰/۴۶±۱/۰۰^{a}	۶/۴۷±۰/۲۰^{b}	۴/۵۲±۰/۲۰^{c}	۰/۹۷±۰/۲۲^{d}	۰/۶۱±۰/۲۰^{d}
Tricosane	۳۴/۳۲	-	-	۰/۳۰±۰/۲۰^{a}	۰/۳۴±۰/۱۵^{a}	۰/۳۷±۰/۰۲^{a}	۰/۳۶±۰/۰۲^{a}
Heptacosane	۳۶/۳۱	۲/۸۴±۰/۲۲^{a}	۰/۹۱±۰/۲۰^{bc}	۰/۹۵±۰/۲۰^{bc}	۱/۴۰±۰/۲۰^{b}	۰/۶۳±۰/۰۲^{c}	۰/۹۴±۰/۲۰^{bc}
Pentacosane	۳۶/۲۷	۹/۳۷±۰/۵۳^{b}	۱۳/۱۲±۰/۳۷^{a}	۷/۶۰±۰/۴۷^{b}	۴/۲۰±۰/۵۱^{c}	۱/۴۰±۰/۲۰^{cd}	۰/۵۴±۰/۲۰^{d}

*اعداد، میانگین ± انحراف معیار از سه تکرار می‌باشد.

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq$۰/۰۱).

** زمان بازداری در دستگاه GC-MS (دقیقه)

بررسی تأثیر نوع و غلظت محلول قلیایی روی مقدار پلی‌فنول‌کل در پودر کاکائو

براساس نتایج آماری جدول (۱) مقدار پلی‌فنول‌کل نمونه‌ها در تیمارهای مختلف، اختلاف آماری معنی‌دار دارند ($P\leq$۰/۰۱). دانهٔ کاکائو ازنظر پلی‌فنول‌ها غنی می‌باشد و این مواد ۱۲ تا ۱۸ درصد وزن خشک کل دانه را تشکیل می‌دهد (Kim & Keeney, 1984). پلی‌فنول موجود در محصولات حاوی کاکائو با خصوصیات سلامت‌بخشی برای بدن انسان همراه است، همچنین در تولید رنگ قهوه‌ای خاص کاکائو و طعم گسی نقش دارد. تجزیه‌وتحلیل واریانس (ANOVA) نشان داد که مقدار پلی‌فنول‌کل در پودرهای کاکائو با تغییر نوع و غلظت محلول قلیایی به‌طور قابل‌توجهی ($P\leq$۰/۰۱) تغییر کرده است. کمترین مقدار پلی‌فنول‌کل در پودرهای قلیایی در نمونهٔ A_9 (قلیاییت با محلول K_2CO_3، ۳ درصد) مشاهده شد. در یک غلظت ثابت و مشخص، قلیاییت با محلول K_2CO_3 باعث شد، مقدار پلی‌فنول کمتری نسبت به قلیاییت با محلول NaOH تولید شود (جدول ۴). به‌همین‌روال، قلیاییت با ترکیبی از محلول‌های K_2CO_3 و NH_4HCO_3 نسبت به ترکیبی از محلول‌های NaOH و NH_4HCO_3، محتوای پلی‌فنول پایین‌تری را به نمایش گذاشت. نتایج مشابه درمورد قلیاییت با سود و کربنات پتاسیم، توسط محققان گزارش شده است (Li *et al.*, 2014; Rodríguez, Pérez, & Guzmán, 2009).

همان‌طورکه اشاره شد، پودر کاکائو یکی از غنی‌ترین منابع غذایی حاوی پلی‌فنول (براساس وزن) می‌باشد که تاکنون شناخته شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که قلیاییت باعث شد، در مقایسه با پودر کاکائوی طبیعی، سطح پلی‌فنول در پودرهای کاکائوی قلیایی، کاهش یابد. پودر کاکائوی قلیایی‌نشده، بالاترین مقدار پلی‌فنول‌کل را دارا می‌باشد (۱۶/۷۵ میلی‌گرم بر گرم، جدول ۱). نتایج مشابه توسط محققان گزارش شده است (Gültekin-Özgüven, Berktaş, & Özçelik, 2016; Miller *et al.*, 2008).

جدول ۴- تأثیر شرایط مختلف آلکالیزاسیون روی مقدار آلکیل‌پیرازین‌ها (ppb) و پلی‌فنول کل (میلی‌گرم بر گرم) در نمونه‌های پودر کاکائو*

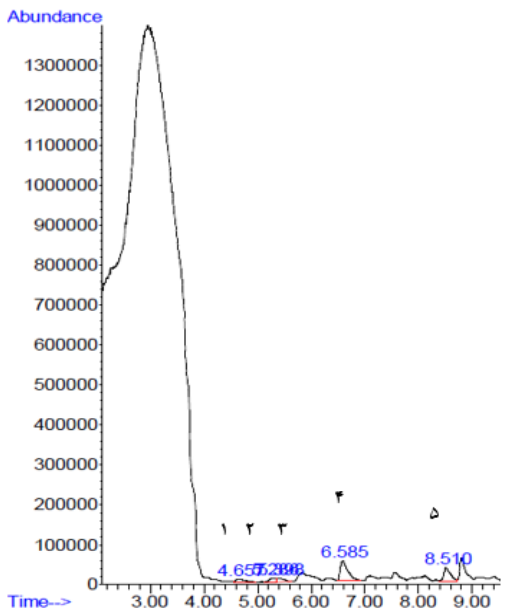
نمونه	آلکیل‌پیرازین‌ها**							پلی‌فنول کل (میلی‌گرم بر گرم)	pH
	2-MP	2,3- DMP	2,5- DMP	2,3,5-TrMP	2,3,5,6- TMP	TMP/TrMP	پیرازینکل		
A_0	۱۹۶۷/۸۰±۴۰/۰۰^{d0}	۱۳۵۳/۲۰±۲۵/۲۰^{c}	۱۹۶۷/۸۰±۴۰/۰۰^{c}	۱۰۴۷۵/۰۰±۲۰/۰۰^{f}	۱۲۸۷۱/۹۰±۲۰/۰۰^{c}	۱/۲۰±۰/۰۲^{a}	۳۰۶۱۱/۸۰^{c}	۱۶/۷۵±۰/۲۵^{a}	۵/۳۵±۰/۱۰^{d}
A_1	۱۷۵۵/۰۰±۵۰/۰۰^{efg}	۱۲۷۲/۵۰±۲۰/۰۰^{d}	۱۷۵۵/۰۰±۲۰/۰۰^{e}	۹۵۲۶/۰۰±۲۰/۰۰^{g}	۱۱۶۷۱/۹۰±۳۰/۰۰^{f}	۱/۱۰±۰/۰۶^{ab}	۲۷۸۰۱/۹۰^{h}	۱۵/۸۵±۰/۱۰^{b}	۷/۰۲±۰/۰۲^{bc}
A_2	۲۷۹۷/۵۰±۶۰/۰۰^{a}	۲۲۳۷/۷۰±۲۰/۰۰^{a}	۲۷۹۷/۵۰±۱۰/۰۰^{a}	۱۶۷۳۱/۴۰±۲۰/۰۰^{a}	۱۶۷۶۷/۱۰±۳۰/۰۰^{a}	۱/۰۰±۰/۰۰^{de}	۴۴۰۴۷/۴۰^{a}	۱۴/۳۴±۰/۱۰^{c}	۶/۸۹±۰/۱۰^{c}
A_3	۱۸۴۹/۱۰±۷۲/۰۰^{def}	۱۲۹۲/۷۰±۲۰/۰۰^{d}	۱۸۴۹/۱۰±۲۰/۰۰^{e}	۱۰۷۴۳/۴۰±۲۰/۰۰^{e}	۱۱۷۶۷/۸۰±۳۰/۰۰^{e}	۱/۰۰±۰/۰۶^{cd}	۲۹۲۳۰/۰۰^{f}	۱۵/۴۴±۰/۱۹^{b}	۶/۸۳±۰/۰۶^{c}
A_4	۱۸۷۶/۳۰±۱۵/۱۰^{dc}	۱۳۸۷/۴۰±۳۰/۰۰^{c}	۱۸۷۶/۳۰±۴۰/۰۰^{d}	۱۲۶۰۳/۷۰±۲۶/۲۰^{c}	۱۳۲۷۹/۲۰±۲۰/۰۰^{b}	۱/۰۰±۰/۰۲^{d}	۳۲۹۱۴/۹۰^{d}	۱۵/۷۴±۰/۳۰^{b}	۷/۰۴±۰/۱۲^{bc}
A_5	۲۱۱۵/۵۰±۸۳/۲۷^{c}	۱۶۶۸/۰۰±۲۰/۰۰^{b}	۲۱۱۵/۵۰±۲۹/۷۰^{cd}	۱۶۴۹۷/۵۰±۱۹/۹۰^{b}	۱۳۳۲۷/۸۰±۲۰/۰۰^{b}	۰/۸۰±۰/۰۱^{g}	۳۷۴۴۲/۵۰^{e}	۱۳/۸۶±۰/۱۳^{c}	۷/۰۰±۰/۱۰^{bc}
A_6	۱۶۸۱/۰۰±۲۰/۰۰^{g}	۱۱۲۳/۳۰±۲۰/۰۰^{f}	۱۶۸۱/۰۰±۲۰/۰۰^{f}	۹۰۲۱/۷۰±۲۰/۰۰^{h}	۱۰۱۳۳/۸۰±۳۰/۰۰^{h}	۱/۱۰±۰/۰۰^{bc}	۲۴۴۹۱/۸۰^{i}	۱۳/۲۷±۰/۰۷^{d}	۷/۲۳±۰/۱۹^{b}
A_7	۲۲۷۴/۶۰±۲۰/۰۰^{b}	۱۶۹۹/۴۰±۲۰/۰۰^{b}	۲۲۷۴/۶۰±۳۰/۰۰^{b}	۱۲۴۸۸/۱۰±۲۰/۰۰^{d}	۱۲۳۴۵/۶۰±۳۰/۰۰^{d}	۰/۹۳±۰/۰۶^{ef}	۳۴۱۴۱/۷۰^{c}	۱۳/۱۰۷±۰/۱۹^{d}	۶/۹۴±۰/۰۳^{bc}
A_8	۱۳۰۳/۴۰±۴۵/۸۰^{h}	۱۱۵۵/۱۰±۲۰/۰۰^{ef}	۱۳۰۳/۴۰±۲۰/۰۰^{g}	۷۳۳۹/۰۰±۳۰/۰۰^{i}	۷۶۳۷/۹۰±۲۰/۰۰^{i}	۱/۰۰±۰/۰۰^{de}	۱۹۶۶۴/۶۰^{j}	۱۰/۹۵±۰/۲۰^{e}	۸/۲۸±۰/۱۰^{a}
A_9	۱۷۲۲/۰۰±۱۰/۰۰^{fg}	۱۱۸۸/۷۰±۲۰/۰۰^{e}	۱۷۴۷/۰۰±۳۰/۰۰^{cd}	۱۰۷۲۱/۲۰±۲۰/۰۰^{e}	۱۰۶۶۵/۵۰±۲۰/۰۰^{g}	۰/۹۰±۰/۰۰^{f}	۲۸۱۳۴/۳۰^{g}	۱۰/۴۹±۰/۰۹^{e}	۸/۳۸±۰/۰۳^{a}

*اعداد، میانگین ± انحراف معیار از سه تکرار می‌باشد.
حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq۰/۰۱$).
**ترکیبات MP: متیل پیرازین، DMP: دی متیل پیرازین، TrMP: تری متیل پیرازین، TMP: تترامتیل پیرازین و TMP/TrMP: نسبت تترامتیل پیرازین به تری متیل پیرازین می‌باشد.

تأثیر نوع و غلظت محلول قلیایی بر میزان آلکیل‌پیرازین‌ها و نسبت TMP/TrMP در پودر کاکائو

براساس نتایج آماری جدول (۴) میزان آلکیل‌پیرازین‌ها و نسبت TMP/TrMP نمونه‌ها در تیمارهای مختلف، اختلاف آماری بسیار معنی‌دار دارند ($P\leq۰/۰۱$). همچنین میان میانگین میزان آلکیل‌پیرازین و نسبت TMP/TrMP نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($P\leq۰/۰۱$). تجزیه‌وتحلیل واریانس (ANOVA) نشان داد که میزان آلکیل‌پیرازین‌های پودر کاکائو (۲- متیل‌پیرازین، ۳،۲- دی‌متیل‌پیرازین، ۵،۲-دی‌متیل‌پیرازین، ۵،۳،۲- تری‌متیل‌پیرازین و ۶،۵،۳،۲-تترامتیل‌پیرازین) با تغییر نوع و غلظت محلول قلیایی به‌طور قابل‌توجهی تغییر کردند ($P\leq۰/۰۱$). یک کروماتوگرام از نمونهٔ پودر A5، قلیاییت با محلول NaOH ۰/۵ درصد و K_2CO_3 ۱/۵ درصد در شکل (۲) نشان داده شده است. پودر کاکائوی A2 که به‌وسیلهٔ محلول K_2CO_3 ۱ درصد قلیایی شد، بیشترین مقدار آلکیل‌پیرازین کل و تترامتیل‌پیرازین را داشت (جدول ۴)، به‌ترتیب آلکیل‌پیرازین ۴۴۰۴۷/۴۰ و ۱۶۷۶۷/۱۰) و پودر کاکائویی که به‌وسیلهٔ محلول NaOH ۳ درصد قلیایی شد، کمترین مقدار آلکیل‌پیرازین کل و تترامتیل‌پیرازین را داشت (جدول ۴).

واکنش میلارد را می‌توان به سه مرحله تقسیم کرد: مرحلهٔ اول با تراکم قند-آمین و بازآرایی آمادوری شروع می‌شود. مرحلهٔ میانی با ازدست‌دادن آب ترکیب قندی و تکه‌تکه‌شدن آن و شکستن اسیدآمینه شروع می‌شود و مرحلهٔ آخر منجربه تشکیل ترکیبات هتروسیلیک نیتروژنی می‌شود (Davies & Labuza, 1997). قندهای احیاکننده در فرم زنجیرهٔ باز و گروه‌های آمینه به فرم $-NH_2$ واکنش‌دهنده‌های فعال برای اولین مرحله از واکنش میلارد می‌باشند. شرایط خنثی و قلیایی بیشتر از شرایط اسیدی، به تشکیل حلقهٔ باز قندهای احیاکننده کمک می‌کند (Van Boekel, 2006; Yaylayan, Ismail, & Mandeville, 1993).



شکل ۲- کروماتوگرافی پودر کاکائوی قلیایی‌شده با محلول NaOH ۰/۵ درصد و K_2CO_3 ۱/۵ درصد (نمونهٔ A_5)، با روش کروماتوگرافی گازی طیف‌سنجی جرمی

(۱) زمان بازداری (۴/۶۴ دقیقه): ۲-متیل‌پیرازین
(۲) زمان بازداری (۵/۲۷ دقیقه): ۲،۵- دی‌متیل‌پیرازین
(۳) زمان بازداری (۵/۳۷ دقیقه): ۲،۳-دی‌متیل‌پیرازین
(۴) زمان بازداری (۶/۵۸ دقیقه): ۲،۳،۵-تری‌متیل‌پیرازین
(۵) زمان بازداری (۸/۵ دقیقه): ۲،۳،۵،۶-تترامتیل‌پیرازین

علاوه‌بر این، شرط خنثی و قلیایی به دفع گروه آمینه به شکل واکنش‌پذیر $-NH_2$ از پروتئین‌ها، کمک می‌کند (Davies & Labuza, 1997). بنابراین، تحت‌شرایط قلیایی با افزایش واکنش‌گرها (قند احیاکنندهٔ زنجیرهٔ باز و آمین با فرم $-NN_2$)، واکنش مرحلهٔ اول میلارد پیشرفت می‌کند. pH قلیایی همچنین باعث تغییر ترکیبات واسطه‌ای می‌شود که در مرحلهٔ میانی ساخته شدند. pH خنثی و قلیایی به تشکیل واسطه‌های دهیدروردیکتون[1] (۱-دزاکسی هگزولوز[2]) و محصولات فیسیونی مانند پیرووالدئید، دی‌استیل و استول کمک می‌کند. این دی‌کربونیل‌ها با اسیدهای آمینه واکنش می‌دهند تا آمینوکتون‌ها و آلدئیدهای استرکری را تولید کنند که ازطریق دیمری‌شدن به آلکیل‌پیرازین‌ها تبدیل می‌شوند (Davies & Labuza, 1997). بنابراین، در pH بالا، مرحلهٔ اول پیشرفت بیشتری می‌کند و پیش‌سازهای آلکیل‌پیرازینی بیشتری در مرحلهٔ میانی ساخته می‌شود، درنتیجه آلکیل‌پیرازین‌های بیشتری نسبت به شرایط pH پایین، ساخته می‌شود (Huang & Barringer, 2010).

نسبت بین ۲،۳،۵-تری‌متیل‌پیرازین و ۲،۳،۵،۶-تترامتیل‌پیرازین (TMP/TrMP) در نمونه‌های پودر کاکائو، پس از آلکالیزاسیون در شرایط مختلف، در جدول (۳) نشان داده شده است. در پودرهای کاکائو، نسبت TMP به TrMP با تغییر نوع محلول قلیایی به‌طور قابل‌توجهی تغییر کرد ($P\leq$۰/۰۱). پودر کاکائوی قلیایی‌نشده، بالاترین مقدار نسبت TMP/TrMP را داشت.

طی ارزیابی حسی در تحقیق‌های مختلف گذشته، تعیین‌شده است که درجهٔ بودادن کاکائو زمانی طبیعی است که نسبت TMP/TrMP برابر یا در حدود عدد ۱ باشد، دراین‌صورت محصولات کاکائو کیفیت عطروطعم مطلوبی را نشان می‌دهند. اگر این نسبت بزرگ‌تر از عدد ۱ باشد، کیفیت عطروطعم پودر کاکائو ضعیف است زیرا هنوز به اندازهٔ کافی مقدار TrMP افزایش نیافته است. نسبت پایین‌تر از عدد ۱، نشان‌دهندهٔ توسعهٔ بیش از اندازهٔ تری‌متیل‌پیرازین، بیشتربودن دمای فرایند بودادن کاکائو و حضور بوی سوختگی می‌باشد (Hashim & Chaveron, 1994; Huang & Barringer, 2010; Serra Bonvehí & Ventura Coll, 2002).

تاکنون هیچ مطالعه‌ای، نسبت TMP/TrMP برای شرایط آلکالیزاسیون کاکائو ارزیابی نکرده است، اما اگر این بررسی صورت بگیرد، باید شرایط بودادن نه تنها با تغییر pH بلکه با تغییر نوع قلیا نیز تنظیم شود. برای مثال در نمونه‌هایی با pH پایین (با درجهٔ قلیاییت سبک)، زمان طولانی‌تر و یا درجه‌حرارت بالاتری در مرحلهٔ بودادن برای افزایش محتوای TrMP لازم است. در نمونه‌هایی که pH بالایی دارند (با درجهٔ قلیاییت بالا)، زمان بودادن باید کوتاه‌تر باشد یا دمای بودادن پایین‌تر باشد (Huang & Barringer, 2010). برای نمونه‌های با نوع قلیاهای مختلف، شرایط بودادن (زمان و دما) باید متفاوت باشد. به‌عنوان مثال، تیمار A_5، نسبت TMP/TrMP پایینی دارد (۰/۸، جدول ۴)، بنابراین زمان بودادن باید کوتاه‌تر باشد یا دما پایین‌تر باشد.

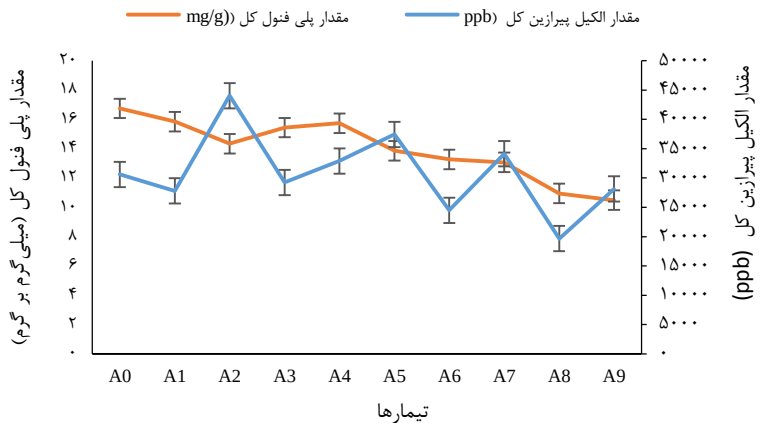
نتایج این مطالعه نشان داد که پودرهای کاکائو در مقادیر مختلف غلظت محلول قلیایی حاوی مقادیر مختلف آلکیل‌پیرازین می‌باشند جدول (۴). مقادیر آلکیل‌پیرازین‌ها و مقادیر نسبت TMP/TrMP برای نمونه‌های با درجهٔ آلکالیزاسیون سبک، نسبت به نمونهٔ قلیایی‌نشده، بیشتر بود،

[1] Dehydroreductone
[2] 1-deoxyhexuloses

شاید به‌این‌دلیل که تشکیل اکثر آلکیل‌پیرازین‌های ایجادشده در طی واکنش میلارد، در pH قلیایی سریع‌تر می‌باشد (Koehler & Odell, 1970). pH قلیایی، مرحلهٔ اول واکنش میلارد را تسریع و به تشکیل آلکیل‌پیرازین‌ها در مرحلهٔ دوم کمک کرد. هنگامی که pH در حدود ۷ (قلیاییت سبک) بود، افزایش قابل‌توجهی در غلظت آلکیل‌پیرازین‌ها وجود داشت. نتایج مشابه توسط Huang و Barringer (۲۰۱۰) گزارش شده است. قلیاییت سنگین (pH≥۸) به‌ویژه به‌وسیلهٔ محلول NaOH مقدار آلکیل‌پیرازین کل و نسبت مقادیر TMP/TrMP را کاهش داد. با افزایش غلظت محلول قلیایی و دامنهٔ pH به بالاتر از ۸، میزان آلکیل‌پیرازین پودرهای کاکائو به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P≤۰/۰۱). نتایج مشابه در مطالعهٔ آلکیل‌پیرازین‌ها و سایر ترکیبات فرار موجود در مشروبات کاکائو با pH ۵ تا ۸ گزارش شد (Liu, Cao, Huang, Cai, & Yao, 2010).

برخلاف نتایج پژوهش حاضر، Serra Bonvehí و Ventura Coll (۲۰۰۲) اظهار داشتند که با افزایش pH، نسبت TMP/TrMP افزایش یافت. مطالعهٔ آنها درمورد شرایط مختلف فرایند بودادن دانهٔ کاکائو بود.

رابطهٔ بین آلکیل‌پیرازین کل و محتوای پلی‌فنول پودر کاکائو در شرایط مختلف قلیاییت، در شکل (۳) نشان داده شده است. این احتمال وجود دارد که ترکیبات پیرازینی به پلی‌فنول‌ها متصل شوند. همان‌طورکه قبلاً گفته شد، پلی‌فنول‌ها گرایش قوی برای ترکیب‌شدن با مواد دیگر در فرم اکسیدی و غیراکسیدی را دارند. Jinap، Jamilah و Nazamid (۲۰۰۴b) فرضیهٔ احتمالی اتصال پیرازین‌پلی‌فنول را مطرح کردند. افزایش مقدار پلی‌فنول باعث می‌شود که قندهای احیاکننده و اسیدهای آمینهٔ آزاد به‌دلیل اتصال پلی‌فنول‌ها با این ترکیبات، برای تشکیل پیرازین‌ها، کمتر در دسترس باشند. همچنین وجود پلی‌فنول‌ها در دانه ممکن است بخشی از پیرازین را به خود متصل کند، بنابراین محتوای پیرازین را کاهش می‌دهد (Jinap, Jamilah, & Nazamid, 2004a).



شکل ۳- ارتباط بین مقدار آلکیل‌پیرازین کل و مقدار پلی‌فنول‌کل در نمونه‌ها

نتیجه‌گیری

تشکیل ترکیبات عطروطعم در طی واکنش میلارد علاوه‌بر زمان و درجه‌حرارت مرحلهٔ بودادن به pH مرحلهٔ قلیایی نیز بستگی دارد. بنابراین، با بهبود پارامترهای قلیایی، می‌توان خاصیت عطروطعم پودر کاکائو را تغییر داد. پودر کاکائو با انواع مختلف محلول قلیایی و با غلظت‌های مختلف، تحت عمل قلیاییت قرار گرفت و محتوای پلی‌فنول و محتوای آلکیل‌پیرازین آن موردبررسی قرار گرفت. فرایند آلکالیزاسیون محتوای پلی‌فنول‌کل، آلکیل‌پیرازین و pH را تحت‌تأثیر قرار داد. همچنین مشاهده شد که ترکیبی از انواع قلیاها و همچنین غلظت‌های مختلف قلیا، پارامترهای مختلف موردآزمایش را تحت‌تأثیر قرار داد. نمونهٔ A_2 (قلیاییت با K_2CO_3 ۱ درصد) دارای محتوای بالایی از آلکیل‌پیرازین‌کل و تترامتیل‌پیرازین بود. از نتایج چنین حاصل شد که استفاده از درصد قلیای پایین (۱ درصد) و از نوع کربنات پتاسیم عطروطعم بهتری ایجاد می‌کند. در مقایسهٔ نقش انواع قلیاها در ایجاد عطروطعم، استفاده از قلیاهای ترکیبی اثر بهتری نسبت به محلول سود داشت. کمترین عطروطعم ایجادشده مربوط به تیمار قلیایی‌شده با سود با غلظت بالا (۳ درصد) می‌باشد.

منابع

سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]. (۱۳۹۳). پودر کاکائو-ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ ۳۸۳، تجدیدنظر چهارم)، برگفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=41133

Afoakwa, 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*(9), 840-857. doi:https://doi.org/10.1080/10408390701719272

Aprotosoaie, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor chemistry of cocoa and cocoa products—an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 15*(1), 73-91. doi:https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180

Bonvehí, J. S., & Coll, F. V. (2000). Evaluation of purine alkaloids and diketopiperazines contents in processed cocoa powder. *European Food Research and Technology, 210*(3), 189-195. doi:https://doi.org/10.1007/PL00005510

Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen, M. A., Saerens, S., Blennow, A., . . . Heimdal, H. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International, 63*, 306-316.doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.032

Davies, C. G. A., & Labuza, T. P. (1997). The Maillard reaction: application to confectionery products. *Confectionery science, 33*, 35-66.

Farah, D. M. H., & Zaibunnisa, A. H. (2012). Optimization of cocoa beans roasting process using response surface methodology based on concentration of pyrazine and acrylamide.

Giacometti, J., Jolić, S. M., & Josić, D. (2015). Cocoa processing and impact on composition. In *Processing and impact on active components in food* (pp. 605-612): Elsevier.

Gültekin-Özgüven, M., Berktaş, I., & Özçelik, B. (2016). Change in stability of procyanidins, antioxidant capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. *LWT-Food Science and Technology, 72*, 559-565. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.065

Hashim, L., & Chaveron, H. (1994). Extraction and determination of methylpyrazines in cocoa beans using coupled steam distillation-microdistillator. *Food Research International, 27*(6), 537-544. doi:https://doi.org/10.1016/0963-9969(94)90139-2

Huang, Y., & Barringer, S. A. (2010). Alkylpyrazines and other volatiles in cocoa liquors at pH 5 to 8, by selected ion flow tube-mass spectrometry (SIFT-MS). *Journal of food science, 75*(1), C121-C127. doi:https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01455.x

Iranian National Standardization Organization. (2014). Cocoa powder - Specifications and test methods. (ISIRI Standard No. 383, 4th. Revision). Retrieved from http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=41133 (in Persian)

Jinap, S., Jamilah, B., & Nazamid, S. (2004a). Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during cocoa liquor roasting. *Food chemistry, 85*(1), 73-80. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.005

Jinap, S., Jamilah, B., & Nazamid, S. (2004b). Sensory properties of cocoa liquor as affected by polyphenol concentration and duration of roasting. *Food Quality and Preference, 15*(5), 403-409. doi:https://doi.org/10.1016/S0950-3293(03)00097-1

Jinap, S., Rosli, W. W., Russly, A., & Nordin, L. (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*(4), 441-448. doi:https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199808)77:4<441::AID-JSFA46>3.0.CO;2-%23

Kim, H., & Keeney, P. G. (1984). (-)-Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. *Journal of food science*, *49*(4), 1090-1092. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1984.tb10400.x

Koehler, P. E., & Odell, G. V. (1970). Factors affecting the formation of pyrazine compounds in sugar-amine reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *18*(5), 895-898. doi:https://doi.org/10.1021/jf60171a041

Kongor, J. E., Hinneh, M., Van de Walle, D., Afoakwa, E. O., Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (Theobroma cacao) bean flavour profile—A review. *Food Research International*, *82*, 44-52. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012

Kothe, L., Zimmermann, B. F., & Galensa, R. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food chemistry*, *141*(4), 3656-3663. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.049

Li, Y., Zhu, S., Feng, Y., Xu, F., Ma, J., & Zhong, F. (2014). Influence of alkalization treatment on the color quality and the total phenolic and anthocyanin contents in cocoa powder. *Food Science and Biotechnology*, *23*(1), 59-63. doi:https://doi.org/10.1007/s10068-014-0008-5

Liu, L., Cao, J., Huang, J., Cai, Y., & Yao, J. (2010). Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource technology*, *101*(9), 3268-3273. doi:https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.062

Mazor Jolić, S., Radojčić Redovniković, I., Marković, K., Ivanec Šipušić, Đ., & Delonga, K. (2011). Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *International journal of food science & technology*, *46*(9), 1793-1800. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02670.x

Miller, K. B., Hurst, W. J., Payne, M. J., Stuart, D. A., Apgar, J., Sweigart, D. S., & Ou, B. (2008). Impact of alkalization on the antioxidant and flavanol content of commercial cocoa powders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(18), 8527-8533. doi:https://doi.org/10.1021/jf801670p

Nair, K. P. (2010). *The agronomy and economy of important tree crops of the developing world*: Elsevier.

Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Ndoumou, D. O., & Lieberei, R. (2006). Comparative study of different cocoa (Theobroma cacao L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*(6-7), 612-619. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.02.006

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 components analysis. *Food Research International*, *44*(1), 250-258. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.028

Rodríguez, P., Pérez, E., & Guzmán, R. (2009). Effect of the types and concentrations of alkali on the color of cocoa liquor. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *89*(7), 1186-1194. doi:https://doi.org/10.1002/jsfa.3573

Schultz, T. H., Flath, R. A., Mon, T. R., Eggling, S. B., & Teranishi, R. (1977). Isolation of volatile components from a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *25*(3), 446-449. doi:https://doi.org/10.1021/jf60211a038

Serra Bonvehí, J., & Ventura Coll, F. (2002). Factors affecting the formation of alkylpyrazines during roasting treatment in natural and alkalinized cocoa powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(13), 3743-3750. doi:https://doi.org/10.1021/jf011597k

Van Boekel, M. (2006). Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology advances*, *24*(2), 230-233. doi:https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.11.004

Yaylayan, V. A., Ismail, A. A., & Mandeville, S. (1993). Quantitative determination of the effect of pH and temperature on the keto form of D-fructose by FT IR spectroscopy. *Carbohydrate research*, *248*, 355-360. doi:https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)84141-R

Ziegleder, G. (2009). Flavour development in cocoa and chocolate. *Industrial chocolate manufacture and use*, *4*, 169-191. doi:https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch8

Zyzelewicz, D., Budryn, G., Oracz, J., Antolak, H., Kregiel, D., & Kaczmarska, M. (2018). The effect on bioactive components and characteristics of chocolate by functionalization with raw cocoa beans. *Food Res Int*, *113*, 234-244. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.017

The Evaluation of Desirable Aromatic Components and Polyphenolic Compounds in the Process of Cocoa Powder Production

Fariba Mohamadi Alasti[1], Narmela Asefi[2*], Ramin Maleki[3], Seiied Sadegh Seiiedlou Heris[4]

1- PhD. Student, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
* Corresponding author (n.asefi@iaut.ac.ir)
3- Assistant Professor, Research Department of Chromatography, Iranian Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR), Urmia Branch, Urmia, Iran
4- Associate Professor, Department of Biosystems Engineering, Tabriz University, Tabriz, Iran

Abstract

Cocoa powder and chocolate are one of the most popular ingredients used in food products. The flavor of these products plays an important role in the consumer's popularity and acceptance. Pyrazines are one of the main constituents of the heterocyclic group of volatiles and key components of odor in cocoa flavor. In order to evaluate the effect of the process of cocoa powder production on the composition of desirable fragrances, the stages of cocoa powder production line were sampled from Cameroon seeds and the samples were analyzed and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The results showed that the alkalization stage is one of the important and effective steps on the flavor of cocoa powder. Therefore, the effect of three types of alkali (NaOH, K_2CO_3 and NH_4HCO_3) was investigated at different concentrations. The data indicated that the polyphenolac and alkylpyrazines amounts significantly changed. Non-alkaline powder had higher polyphenol and tetramethylpyrazine to trimethylpyrazine (TMP/TrMP) ratios than alkaline cocoa powder. In addition, in alkaline cocoa samples, the amounts of polyphenol and alkylpyrazine decreased with increasing alkali concentration. At the same concentration, alkalization with a NaOH solution produced a higher polyphenol content and TMP/TrMP ratio, but lower alkylpyrazine value than that with a K_2CO_3 solution. Light alkalization cocoa powder with K_2CO_3 solution (pH 6.89) produced the highest amount of alkylpyrazine

Keywords: Alkalization, Alkyl pyrazine, Cacao powder, Polyphenol, Roasting