

不同基因型可可发酵过程中挥发性香气成分变化规律研究

岳一轮^{1,2}, 秦晓威^{2*}, 李付鹏², 钟壹鸣^{1,2}, 贺书珍², 白亭玉², 初 众²

1. 海南大学林学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院香料饮料研究所/农业农村部香辛饮料作物遗传资源利用重点实验室/海南省热带香辛饮料作物遗传改良与品质调控重点实验室, 海南万宁 571533

摘 要: 挥发性香气成分组成是可可品质评价的重要指标之一, 而发酵是影响可可挥发性香气成分的关键过程。为揭示不同基因型可可豆发酵过程中挥发性香气成分的变化规律及差异, 本研究以 ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 三种不同基因型可可作为试验材料, 利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术 (HS-SPME-GC/MS) 测定可可豆 0~7 d 发酵过程中的挥发性香气成分, 并采用峰面积归一化法计算各成分的相对含量。结果表明: 3 种基因型可可豆发酵过程中共鉴定出 32 种挥发性香气成分, 其中 2,3-丁二醇、2-庚醇、2-戊醇、3-甲基-1-丁醇、苯乙醇、芳樟醇、乙酸、3-羟基-2-丁酮及 2,3,5-三甲基吡嗪 9 种共有香气物质在不同基因型可可豆发酵过程中的相对含量变化存在显著差异; 主成分分析表明, 主要香气成分与发酵阶段香气特征之间存在一定相关性, 其中 2,3-丁二醇、乙酸、芳樟醇、3-羟基-2-丁酮与可可豆发酵阶段香气特征呈正相关, 3-甲基-1-丁醇、丁内酯、苯乙酮等香气物质与发酵阶段香气特征呈负相关。因此, 不同基因型可可发酵过程中的香气成分组成及含量变化存在差异, 且主要香气成分与发酵阶段存在相关性, 这为优质可可新品种选育及应用提供参考依据。

关键词: 可可; 基因型; 发酵; 香气成分; 顶空固相微萃取

中图分类号: TS274; O657.63 文献标识码: A

Analysis of Volatile Aroma Components of Different Genotypes Cocoa Beans During Fermentation Periods

YUE Yilun^{1,2}, QIN Xiaowei^{2*}, LI Fupeng², ZHONG Yiming^{1,2}, HE Shuzhen², BAI Tingyu², CHU Zhong²

1. College of Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Spice and Beverage Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Genetic Resources Utilization of Spice and Beverage Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Provincial Key Laboratory of Genetic Improvement and Quality Regulation for Tropical Spice and Beverage Crops, Wanning, Hainan 571533, China

Abstract: The volatile aroma composition is one of the important indexes for cocoa quality evaluation, and fermentation is the key process that affects the volatile aroma composition of cocoa. To reveal the pattern and differences of the volatile aroma components during cocoa bean fermentation with different genotypes, three types of cocoa (ZYP11-9, STS16, and ZYP6-11) were used as the test materials, and the headspace solid-phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC/MS) was used to determine the volatile aroma components during 0–7 days fermentation of cocoa beans, and the relative contents of each component were calculated by peak area normalization. The results showed that a total of 32 volatile aroma compounds were identified during the fermentation of cocoa beans from the three genotypes, among which 9 consensus aroma compounds, including 2,3-butanediol, 2-heptanol, 2-pentanol, 3-methyl-1-butanol, phenylethyl alcohol, linalool, acetic acid, 3-hydroxy-2-butanone, and 2,3,5-trimethylpyrazine, showed significant differences in the relative contents during the fermentation of cocoa beans from different genotypes; PCA analysis showed that there was some correlation between the main aroma components and the aroma characteristics of the fermentation stage, in which 2,3-butanediol, acetic acid, linalool, 3-hydroxy-2-butanone were positively corre-

收稿日期 2022-10-08; 修回日期 2022-12-22

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2021XDNY123); 国家重点研发计划项目 (No. 2020YFD1001200)。

作者简介 岳一轮 (1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 风景园林。*通信作者 (Corresponding author): 秦晓威 (QIN Xiaowei), E-mail: qin_xiaowei@163.com。

lated with the aroma characteristics of cocoa beans fermentation stage, and the aroma substances such as 3-methyl-1-butanol, butanolactone, and acetophenone were negatively correlated with the aroma characteristics of the fermentation stage. Therefore, there are differences in the aroma composition and content changes during cocoa fermentation with different genotypes, and there is a correlation between the main aroma components and the fermentation stage, which would provide a reference basis for the breeding and application of high-quality cocoa new cultivars.

Keywords: cocoa; genotypes; fermentation; aroma components; headspace solid-phase microextraction

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.03.014

可可 (*Theobroma cacao* L.) 为梧桐科 (Sterculiaceae) 可可属 (*Theobroma*) 多年生热带经济作物^[1]。可可豆富含脂肪、可可碱、多酚等活性成分, 具有改善心脏、肾脏、肠道功能, 缓解心绞痛等作用, 是制作高级饮品、巧克力、糖果等的主要原料^[2]。据联合国粮农组织 (FAO) 统计, 2022 年世界可可收获面积达 $1.2 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 产量达 $5.8 \times 10^6 \text{ t}$ ^[3], 我国自 20 世纪 20 年代由东南亚引进试种成功, 已发展成为热带特色高效农业的重要组成部分。据国际可可组织 (ICCO) 统计表明, 2022 年国际优质可可出口占可可出口总量的 12%, 优质可可原料的供需矛盾极为突出^[4]。因此, 优质可可品种选育是国际可可提质增效的核心科学问题。

可可豆挥发性香气物质数量和种类是形成可可独特风味的重要因素, 也是评价可可品质的重要指标^[5]。相关研究表明, 可可鲜豆挥发性物质成分与含量受可可基因型的影响^[6]。QIN 等^[7]利用 HS-SPME-GC/MS 技术对国际可可三大遗传类型 Criollo、Forastero 和 Trinitario 的挥发性成分进行鉴定表明, 可可鲜豆香气物质成分的组成和含量与可可的遗传背景存在一定关联。发酵是形成可可风味物质的关键步骤, 会影响可可主要香气物质的形成^[8]。房一明等^[9]研究表明, 发酵影响可可豆前体风味物质的形成。可可可在发酵过程中产生具有花香和果香特征的挥发性物质, 如芳樟醇 (linalool)、苯乙醇 (benzene ethanol)、乙酸戊醇 (pentanol acetate)、丁醛 (butanal) 等香气物质^[10]。此外, 段美玉等^[11]、RAHARDJO 等^[12]通过 45 °C 和 50 °C 的控温发酵试验研究了发酵过程对可可香气的影响, 研究表明控温条件下可可发酵时间与香气物质成分之间存在显著相关性。

目前, 关于不同基因型可可发酵过程中主要挥发性香气成分的变化规律及其差异性研究鲜见报道, 且主要香气成分与可可豆发酵阶段的相关性还有待证实。顶空固相微萃取-气质联用法 (SPME-GC/MS) 因其方便快捷、灵敏度高、选

择性与重复性好, 能较真实地反映待测物中挥发性物质的基本组成等优点而广泛应用于发酵食品挥发性香气成分的分析^[13]。HEGMANN 等^[14]采用 SPME-GC/MS 方法分析表明, 旱季和雨季可可豆果肉之间的香气成分存在显著差异。谷风林等^[15]利用 SPME-GC/MS 技术揭示了可可发酵过程中蛋白质降解与吡嗪类化合物的变化规律。为揭示不同基因型可可发酵过程中挥发性香气成分的变化规律与组成差异, 本研究以我国筛选的 3 份优质可可种质资源为研究对象, 采用 HS-SPME-GC-MS 技术对不同发酵阶段可可的挥发性香气成分进行鉴定, 分析不同基因型可可发酵过程中挥发性香气成分的组成及差异, 以期为优质可可新品种选育提供数据支撑及科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料: 选用中国热带农业科学院香料饮料研究所国家热带植物种质资源库香料饮料种质资源分库 (NTPGRC2021-014, 2022-014) 保存的 ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 三份不同基因型可可资源 (图 1)。



ZYP11-9 STS16 ZYP6-11

图 1 3 种基因型可可果实特征

Fig. 1 The characteristics of three genotypes of cocoa fruits

仪器设备: HYG-C 多功能摇床 (太仓市实验设备厂), DGX-9243BC-1 电热恒温鼓风干燥箱 (宁波海曙赛福实验仪器厂), Aglient-7890B/5977B 气

相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司), 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头(美国 SUPELCO 公司)。

1.2 方法

材料预处理: 选择采摘好的可可鲜果, 在工作台上去壳取鲜可可豆(800 ± 10)g 分别放置于 1 L

高硼硅玻璃罐中密封, 置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 智能恒温箱中进行发酵。发酵期间每天对样品进行 1 次搅拌处理, 并每天采集发酵样品, 采集后的样品置于 32 $^{\circ}\text{C}$ 鼓风干燥机中, 干燥 3 d 后在研磨机中进行精细研磨, 得到待测可可样品, 样品编号见表 1。

表 1 材料编号信息
Tab. 1 Material No. information

编号 No.	基因型 Genotype	鲜豆期 Fresh bean stage	发酵时间编号 Fermentation time No.						
			第 1 天 1st day	第 2 天 2nd day	第 3 天 3rd day	第 4 天 4th day	第 5 天 5th day	第 6 天 6th day	第 7 天 7th day
A	ZYP11-9	0A	1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A
B	STS16	0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B
C	ZYP6-11	0C	1C	2C	3C	4C	5C	6C	7C

固相微萃取-气质联用: 准确称取表 1 中各可可待测样品 2.0 g 于 20 mL 密封顶空样品瓶中, 使用型号为 50/30 μm 的 DVB/CAR/PDMS SPME 纤维头插入 GC 插入萃取瓶中, 置于样品上方 0.5 cm 顶空萃取 30 min, 萃取头插入 GC 进样口解析 5 min, 每个样品重复 3 次。

色谱条件: 聚乙二醇 (PEG) 毛细管柱, DB-WAX (30 mm $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序为初始温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 4 min, 以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 96 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min, 再以 1.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 150 $^{\circ}\text{C}$, 保持 0 min; 最后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 210 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$; 载氢气, 流速为 1 mL/min。

质谱条件: 电离方式 EI, 电子能量为 70 eV, 离子源温度为 250 $^{\circ}\text{C}$, 传输线温度为 250 $^{\circ}\text{C}$ 。扫描质量范围 40~550 amu。

1.3 数据处理

GC/MS 实验数据通过安捷伦仪器自带软件进行处理, 经计算机检索同时与 NIST 17 谱库和 Wiley 谱库相匹配, 并结合相关文献, 进一步确认香气物质的具体化学成分, 按峰面积归一化法算出样品中各组分的相对含量, 使用 Origin 2021 软件进行数据主成分分析和图像处理。

2 结果与分析

2.1 不同基因型可可豆发酵过程中挥发性香气成分种类组成分析

根据 ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 可可发酵过程中挥发性香气成分的总离子流图组成, 进行分谱库检索和相关资料分析, 共检测出 32 种挥发性

香气化合物, 属于醇类、酯类、酮类、酸类、吡嗪类、呋喃类、烯烃类 7 类 (表 2~表 4)。其中, 醇类 12 种、酯类 11 种、酮类 4 种、酸类 2 种、吡嗪类 1 种、呋喃类 1 种和烯烃类 1 种。ZYP11-9 可可豆发酵过程中共鉴定出 25 种化合物, 其中醇类 10 种、酯类 8 种、酮类 3 种、酸类 2 种、吡嗪类 1 种、呋喃类 1 种, 其中, 2,5-二甲基呋喃、2-氨基丙酸、苯甲酸戊-2-基酯、戊二酸单乙酯、亚硝酸仲丁酯、乙二醇丁醚醋酸酯和乙酸苯酯 7 种物质为特有挥发性成分; STS16 可可豆发酵过程中共鉴定出 21 种化合物, 其中醇类 11 种、酯类 4 种、酮类 4 种、酸类 1 种、吡嗪类 1 种, 其中, 异丁醇、3-乙酰基-2-丁酮和戊二酸单乙酯 3 种物质为特有挥发性成分; ZYP6-11 可可豆发酵过程中共鉴定出 22 种化合物, 其中醇类 11 种、酯类 5 种、酮类 3 种、酸类 1 种、吡嗪类 1 种、烯烃类 1 种, 其中, 3-萜烯、3-羟基丁酸甲酯和乙酸仲戊酯 3 种物质为特有挥发性成分。箱线图统计分析表明 (图 2), ZYP11-9 可可豆发酵过程中的挥发性香气成分组成为 (12.50 ± 3.31) 种; STS16 可可豆挥发性香气成分组成为 (11.50 ± 2.44) 种; ZYP6-11 可可豆挥发性香气成分组成为 (12.62 ± 3.49) 种。在 3 种可可豆发酵中, ZYP6-11 可可豆在发酵过程中的挥发性物质变化较丰富, STS16 可可豆则更为稳定。

由图 3 可见, ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 不同基因型可可豆挥发性成分的种类组成无差异, 但是发酵过程中的种类组成和含量差异较大。发酵过程中 3 种基因型可可豆挥发性香气成分的种类数量呈逐渐减少的趋势, 且发酵过程中挥发性

表 2 ZYP11-9 可可发酵过程中挥发性香气成分及相对含量

Tab. 2 Volatile aroma components and relative contents of ZYP11-9 cocoa beans during fermentation period

种类 Classes	化合物名称 Compound name	代码 Code	保留 时间 RT/min	相对含量 Relative content/%								
				鲜豆期 Fresh bean stage	第 1 天 1st day	第 2 天 2nd day	第 3 天 3rd day	第 4 天 4th day	第 5 天 5th day	第 6 天 6th day	第 7 天 7th day	
酸类	乙酸 acetic acid	aci1	26.95	2.43±0.77	—	14.04±2.15	33.27±3.92	20.71±2.26	15.51±3.08	8.83±1.76	7.33±2.08	
	2-氨基丙酸 L-alanine	aci2	38.30	1.49±0.15	—	—	—	0.08±0.01	0.82±0.07	2.48±0.59	4.96±0.11	
醇类	2-甲基-3-丁烯-2-醇 2-methyl-3-buten-2-ol	alc1	6.50	—	0.66±0.07	0.34±0.01	—	—	—	—	—	
	3-吡咯烷醇 3-pyrrolidinol	alc2	8.29	—	0.65±0.02	0.28±0.08	—	—	—	—	—	
	2-戊醇 2-pentanol	alc4	9.69	14.55±2.66	7.98±1.02	2.64±0.52	1.56±0.47	0.38±0.04	—	—	—	
	3-甲基-1-丁醇 3-methyl-1-butanol	alc5	13.05	7.33±1.59	4.94±0.08	1.36±0.68	0.39±0.08	—	—	—	—	
	2-庚醇 2-heptanol	alc6	18.58	21.64±3.61	8.46±3.77	4.57±0.20	1.60±0.17	0.72±0.03	0.29±0.08	0.17±0.02	0.30±0.08	
	壬醇 1-nonanol	alc7	22.10	4.61±0.79	3.22±0.32	—	—	—	—	—	—	
	芳樟醇 linalool	alc8	29.32	—	4.52±0.32	5.59±1.33	9.61±2.76	15.50±1.26	17.72±2.45	18.24±3.59	17.71±7.12	
	2,3-丁二醇 2,3-butanediol	alc9	29.88	17.01±8.30	49.60±4.13	66.07±4.08	42.96±7.46	55.28±12.35	60.29±3.84	67.07±7.03	54.50±5.94	
	甲基苯甲醇 methylbenzylalcohol	alc10	44.73	0.51±0.03	—	—	—	—	—	—	—	
	苯乙醇 phenylethyl alcohol	alc12	50.77	5.70±2.91	4.60±0.34	1.90±0.34	1.10±0.36	0.42±0.06	0.14±0.05	—	—	
酯类	乳酸乙酯 ethyl lactate	est1	18.92	—	0.86±0.08	—	—	—	—	—	—	
	乙二醇丁醚醋酸酯 2-butoxyethanol acetate	est3	20.79	—	1.48±0.79	—	0.95±0.05	0.40±0.03	—	—	—	
	亚硝酸仲丁酯 butyl nitrite	est4	24.98	2.84±0.68	1.19±0.54	—	—	—	—	—	—	
	γ-丁内酯 γ-butyrolactone	est5	32.24	8.18±0.62	3.22±0.59	—	—	—	—	—	4.53±0.57	
	戊二酸单乙酯 methyl hydrogen glutarate	est6	39.98	—	—	—	—	0.21±0.02	0.56±0.03	1.05±0.59	3.00±0.44	
	乙酸苯乙酯 phenethyl acetate	est7	45.15	—	0.39±0.07	0.24±0.08	0.32±0.07	0.18±0.05	—	—	—	
	苯甲酸乙烯酯 benzoic acid, ethenylester	est8	46.88	0.77±0.06	0.30±0.06	—	—	0.11±0.02	—	—	—	
	乙酸苯酯 phenyl acetate	est9	56.66	0.84±0.05	0.47±0.02	0.07±0.02	—	—	—	—	—	
呋喃类	2,5-二甲基呋喃 2,5-dimethylfuran	fur1	23.87	—	0.55±0.03	0.16±0.07	—	—	—	—	—	
酮类	3-羟基-2-丁酮 acetoin	ket1	15.87	8.26±1.31	5.62±0.96	1.98±0.66	8.18±2.49	5.75±1.51	4.46±0.47	2.05±0.28	2.06±0.04	
	苯乙酮 acetophenone	ket3	34.65	3.85±0.22	1.25±0.45	—	—	—	—	—	—	
	2,3-丁二酮 butane-2,3-dione	ket4	37.91	—	—	—	—	—	—	—	5.27±2.26	
吡嗪类	2,3,5-三甲基吡嗪 2,3,5-trimethylpyrazine	py1	21.68	—	—	0.52±0.05	0.68±0.05	0.26±0.02	0.21±0.01	0.12±0.02	0.20±0.05	

注：—表示未检出。

Note: — indicates undetected.

表 3 STS16 可可发酵过程中挥发性香气成分及相对含量

Tab. 3 Volatile aroma components and relative contents of STS16 cocoa beans during fermentation period

种类 Classe	化合物名称 Compound name	代码 Code	保留 时间 RT/min	相对含量 Relative content/%							
				鲜豆期 Fresh bean stage	第 1 天 1st day	第 2 天 2nd day	第 3 天 3rd day	第 4 天 4th day	第 5 天 5th day	第 6 天 6th day	第 7 天 7th day
酸类	乙酸 acetic acid	aci1	26.95	22.61±2.06	3.41±1.32	17.73±4.39	32.37±2.62	20.94±7.83	15.65±4.67	9.40±3.34	10.83±1.73
醇类	2-甲基-3-丁烯-2-醇 2-methyl-3-buten-2-ol	alc1	6.50	0.18±0.06	0.52±0.01	—	—	—	—	—	—
	3-吡咯烷醇 3-pyrrolidinol	alc2	8.29	0.18±0.02	1.33±0.42	0.12±0.07	—	—	—	—	—
	异丁醇 isobutanol	alc3	8.30	—	—	0.22±0.02	0.11±0.07	—	—	—	—
	2-戊醇 2-pentanol	alc4	9.69	2.80±0.53	3.33±0.15	0.40±0.07	0.86±0.03	0.13±0.01	—	—	—
	3-甲基-1-丁醇 3-methyl-1-butanol	alc5	13.05	7.84±2.27	5.08±1.96	1.02±0.68	0.45±0.03	0.15±0.07	—	—	—
	2-庚醇 2-heptanol	alc6	18.58	9.40±1.32	3.11±0.29	3.81±0.76	1.44±0.17	0.41±0.08	—	—	—
	壬醇 1-nonanol	alc7	22.10	—	3.96±0.52	—	—	—	—	—	—
	芳樟醇 linalool	alc8	29.32	—	5.94±0.51	7.75±3.52	8.07±0.61	14.43±2.86	19.97±2.02	20.02±4.67	20.24±3.02
	2,3-丁二醇 2,3-butanediol	alc9	29.88	29.16±16.32	48.97±9.58	64.04±0.45	45.07±11.18	52.15±4.92	37.68±6.26	60.00±5.25	56.74±0.57
	苯甲醇 benzyl alcohol	alc11	48.61	—	0.30±0.02	0.12±0.08	—	—	—	—	—
	苯乙醇 phenylethyl alcohol	alc12	50.77	6.25±0.19	7.34±3.68	2.88±0.08	1.80±0.27	0.50±0.05	0.39±0.03	0.19±0.08	0.17±0.02
酯类	乳酸乙酯 ethyl lactate	est1	18.92	—	—	0.23±0.05	—	—	—	—	—
	γ-丁内酯 γ-butyrolactone	est5	32.24	8.56±2.13	3.26±1.20	—	—	—	—	5.24±3.60	5.62±2.49
	戊二酸单乙酯 methyl hydrogen glutarate	est6	39.98	—	—	—	—	—	0.23±0.06	0.68±0.04	1.13±0.26
	乙酸苯乙酯 phenethyl acetate	est7	45.15	0.47±0.07	0.36±0.05	0.30±0.07	0.48±0.04	0.19±0.02	—	—	—
酮类	3-羟基-2-丁酮 acetoin	ket1	15.87	9.63±1.68	9.50±1.75	1.07±0.18	8.07±0.80	10.40±3.44	25.57±14.32	3.48±0.06	3.37±0.03
	3-乙酰基-2-丁酮 2-acetoxy-3-butanone	ket2	20.81	—	1.57±0.26	—	0.81±0.04	0.44±0.07	—	—	—
	苯乙酮 acetophenone	ket3	34.65	3.25±0.06	1.93±0.59	—	—	—	0.21±0.06	—	—
	2,3-丁二酮 butane-2,3-dione	ket4	37.91	—	—	—	—	—	—	0.75±0.01	1.60±0.58
吡嗪类	2,3,5-三甲基吡嗪 2,3,5-trimethylpyrazine	py1	21.68	—	—	0.36±0.07	0.43±0.05	0.22±0.03	0.27±0.08	0.20±0.01	0.17±0.03

注：—表示未检出。
Note: — indicates undetected.

表 4 ZYP6-11 可可发酵过程中挥发性香气成分及相对含量

Tab. 4 Volatile aroma components and relative contents of ZYP6-11 cocoa beans during fermentation period

种类 Classes	化合物名称 Compounds name	代码 Code	保留 时间 RT/min	相对含量 Relative content/%							
				鲜豆期 Fresh bean stage	第 1 天 1st day	第 2 天 2nd day	第 3 天 3rd day	第 4 天 4th day	第 5 天 5th day	第 6 天 6th day	第 7 天 7th day
酸类	乙酸 acetic acid	aci1	26.95	—	4.17±0.56	16.48±8.51	28.34±4.92	22.83±6.03	21.79±4.43	45.46±1.93	44.79±2.66
醇类	2-甲基-3-丁烯-2-醇 2-methyl-3-buten-2-ol	alc1	6.50	—	1.94±0.11	0.40±0.01	0.23±0.08	—	—	—	—
	3-吡咯烷醇 3-pyrrolidinol	alc2	8.29	1.21±0.42	1.08±0.74	0.34±0.01	0.23±0.08	—	—	—	—
	2-戊醇 2-pentanol	alc4	9.69	34.16±2.04	35.29±0.88	6.41±0.14	3.61±0.33	2.73±0.11	—	—	—
	3-甲基-1-丁醇 3-methyl-1-butanol	alc5	13.05	8.59±2.43	8.12±1.02	1.75±0.59	1.23±0.60	0.34±0.01	—	—	—

续表 4 ZYP6-11 可可发酵过程中挥发性香气成分及相对含量

Tab. 4 Volatile aroma components and relative contents of ZYP6-11 cocoa beans during fermentation period (continued)

种类 Classes	化合物名称 Compounds name	代码 Code	保留 时间 RT/min	相对含量 Relative content/%							
				鲜豆期 Fresh bean stage	第 1 天 1st day	第 2 天 2nd day	第 3 天 3rd day	第 4 天 4th day	第 5 天 5th day	第 6 天 6th day	第 7 天 7th day
醇类	2-庚醇 2-heptanol	alc6	18.58	6.74±0.29	2.28±0.66	0.21±0.06	—	—	—	—	—
	壬醇 1-nonanol	alc7	22.10	—	4.57±0.40	—	—	—	—	—	—
	芳樟醇 linalool	alc8	29.32	4.25±0.21	11.60±2.93	6.98±3.79	6.77±1.80	8.70±2.02	15.20±8.04	17.04±6.23	16.31±7.95
	2,3-丁二醇 2,3-butanediol	alc9	29.88	19.22±2.10	10.02±3.79	55.99±14.70	47.55±11.01	59.65±20.7	48.69±7.95	20.19±7.88	19.96±1.27
	甲基苯甲醇 methylbenzylalcohol	alc10	44.73	0.99±0.03	—	—	—	—	—	—	0.46±0.04
	苯甲醇 benzyl alcohol	alc11	48.61	0.42±0.07	0.27±0.03	0.12±0.01	—	—	—	—	—
	苯乙醇 phenylethyl alcohol	alc12	50.77	5.68±0.39	7.74±0.97	3.28±0.11	2.64±0.41	0.38±0.07	0.94±0.04	0.83±0.07	1.16±0.20
酯类	乳酸乙酯 ethyl lactate	est1	18.92	—	—	2.17±0.59	1.91±0.21	—	0.30±0.01	0.24±0.02	—
	3-羟基丁酸甲酯 methyl 3-hydroxybutanoate	est2	20.77	—	—	0.47±0.07	0.39±0.08	0.28±0.01	0.49±0.02	0.27±0.06	—
	γ-丁内酯 γ-butyrolactone	est5	32.24	3.99±0.43	3.06±0.27	—	—	—	—	2.15±0.16	2.21±0.49
	乙酸苯乙酯 phenethyl acetate	est7	45.15	—	—	0.14±0.03	0.61±0.05	—	—	0.60±0.01	0.24±0.02
	乙酸仲戊酯 2-pentyl acetate	est10	7.75	—	—	0.07±0.01	0.13±0.05	—	—	—	—
烯烃类	3-蒎烯 carene	hyd1	15.22	—	—	0.21±0.03	0.11±0.08	—	—	—	—
酮类	3-羟基-2-丁酮 acetoin	ket1	15.87	7.55±3.15	4.16±0.10	2.09±0.37	4.33±0.70	4.24±0.75	12.28±0.95	10.27±3.14	11.33±0.30
	苯乙酮 acetophenone	ket3	34.65	3.93±0.19	3.60±0.49	1.69±0.10	1.16±0.31	0.83±0.05	—	—	—
	2,3-丁二酮 butane-2,3-dione	ket4	37.91	—	—	—	0.10±0.06	—	—	2.42±0.38	2.93±0.05
吡嗪类	2,3,5-三甲基吡嗪 2,3,5-trimethylpyrazine	py1	21.68	3.21±0.50	1.79±0.32	1.11±0.56	0.58±0.06	—	0.27±0.04	0.53±0.07	0.56±0.03

注：—表示未检出。
Note: — indicates undetected.

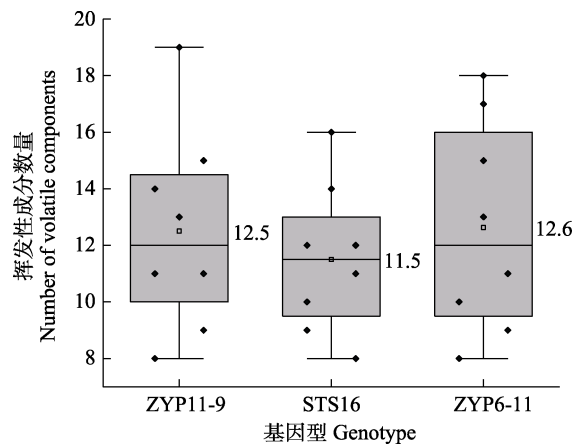


图 2 不同基因型可可发酵过程中挥发性香气成分组成分布特征

Fig. 2 Range and distribution of volatile components of different genotypes of cocoa beans during fermentation period

香气成分的数量存在显著差异。STS16 可可、ZYP6-11 可可豆发酵第 5 天挥发性香气成分数量

最少，与未发酵鲜豆挥发性成分相比分别下降 33.34%和 38.46%；ZYP11-9 可可于发酵第 6 天挥发性香气成分数量最少，与未发酵鲜豆挥发性成分相比下降 46.67%，其中醇类、酯类挥发性香气成分数量下降最为明显。由图 4 可见，3 种基因型可可豆发酵过程中醇类、酸类挥发性香气成分的相对含量较高，其中 ZYP11-9 可可豆发酵过程中醇类物质的相对含量基本不变，占 57.22%~85.48%，酯类物质相对含量最高占 12.63%；STS16 可可豆发酵过程中醇类物质的相对含量呈逐渐上升趋势，与未发酵鲜豆挥发性香气成分相比增长 28.30%，酮类物质平均相对含量较高（10.21%±7.12%），在发酵第 5 天达到峰值 25.79%；ZYP6-11 可可豆的醇类物质相对含量呈逐渐下降趋势，发酵第 7d 与未发酵鲜豆挥发性香气成分相比下降 53.38%，主要原因为 ZYP6-11 可可豆发酵 6~7 d 其酸性挥发性物质较多，相对含量最高为 45.46%。

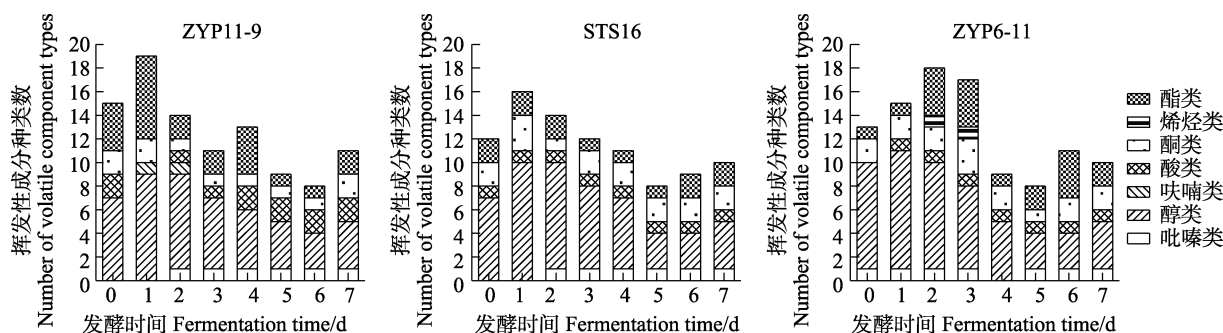


图 3 不同基因型可可豆发酵过程中的挥发性成分种类组成

Fig. 3 The volatile compound categories of different genotypes of cocoa beans during fermentation period

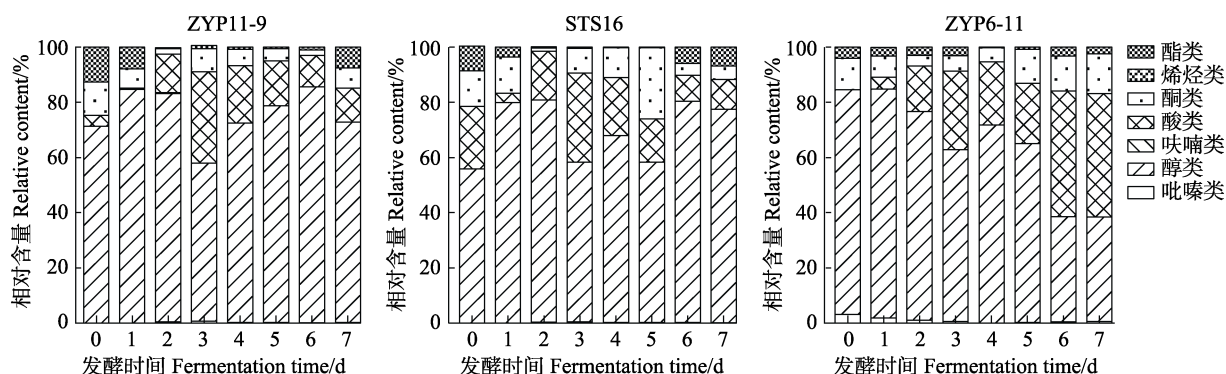


图 4 不同基因型可可豆发酵过程中挥发性成分相对含量的变化

Fig. 4 Volatile compound relative contents of different genotypes of cocoa beans during fermentation period

2.2 不同基因型可可豆发酵过程中挥发性香气成分组成分析

可可发酵过程中醇类物质通常被描述为“水果和植物般”风味，较高的醇类含量也是获得花香和糖果味可可的关键^[16]，ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 三种基因型可可发酵过程中主要的醇类化合物为 2,3-丁二醇、2-庚醇、2-戊醇、3-甲基-1-丁醇、苯乙醇和芳樟醇。2,3-丁二醇在可可风味评价中通常被描述为具有“水果味与黄油味”的香气特征^[17]。2,3-丁二醇在 ZYP11-9、STS16 未发酵可可鲜豆阶段中的相对含量分别为 $17.01\% \pm 8.30\%$ 和 $29.16\% \pm 16.32\%$ ，在发酵过程中呈逐渐增加的趋势，发酵完成后 2,3-丁二醇的相对含量分别增加 220.40% 和 94.56%；然而，ZYP6-11 可可豆发酵过程中的 2,3-丁二醇含量呈先增后减的变化趋势，发酵第 4 天其相对含量达到峰值 $59.65\% \pm 20.70\%$ ，相对含量增量为 210.27%，但发酵完成后的 2,3-丁二醇相对含量与其鲜豆期相比仅增长 3.84%（表 2~表 4）。

2-戊醇、2-庚醇和芳樟醇被描述为具有“果香、柠檬草香和花香”的香气特征，同时有助于产生优质可可中的果味和花香^[18-19]。ZYP11-9、STS16、

ZYP6-11 可可豆的整体发酵过程中 2-戊醇、2-庚醇相对含量呈递减趋势，其中 2-戊醇含量均于发酵第 4 天处于最低，分别为 $0.38\% \pm 0.04\%$ 、 $0.13\% \pm 0.01\%$ 和 $2.73\% \pm 0.11\%$ ，与未发酵阶段相比分别减少 97.38%、95.36% 和 92.01%；2-庚醇在 ZYP11-9 可可发酵第 6 天达到最低含量（ $0.17\% \pm 0.02\%$ ），与鲜豆相比下降 99.21%；在 STS16 可可发酵第 4 天达到最低含量（ $0.41\% \pm 0.08\%$ ），与鲜豆期相比下降 95.60%；在 ZYP6-11 可可豆发酵第 2 天达到最低含量（ $0.21\% \pm 0.06\%$ ），与鲜豆期相比下降 96.81%。芳樟醇是可可豆挥发性物质中的主要醇类成分，对一些可可品种的花香和茶香有显著贡献^[20]，芳樟醇在 ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 可可发酵过程中的相对含量均呈递增趋势，在发酵第 6 天或第 7 天相对含量达到最大，分别为 $18.24\% \pm 3.59\%$ 、 $20.24\% \pm 3.02\%$ 和 $17.04\% \pm 6.23\%$ （表 2~表 4）。

可可发酵过程中有机酸的浓度由于糖的代谢而增加，具有酸味和醋味的乙酸被认为是发酵豆类中气味活性最高的化合物，可可豆在发酵过程中被乙酸酸化，进行各种可可风味开发所需的生化修饰^[10]。ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 可可豆发

酵过程的乙酸含量变化规律不一致。ZYP11-9 可可豆的乙酸含量呈先升后降的变化规律,可可鲜豆的乙酸相对含量仅为 $2.43\%\pm 0.77\%$,发酵第3天达到峰值 ($33.27\%\pm 3.92\%$),而发酵第7天降至 $7.33\%\pm 2.08\%$ 。STS16 可可鲜豆的乙酸相对含量高达 $22.61\%\pm 2.06\%$,发酵第1~2天乙酸含量呈下降趋势,发酵第3天乙酸相对含量达到峰值 ($32.37\%\pm 2.62\%$),但发酵第7天乙酸相对含量降至 $10.83\%\pm 1.73\%$,与鲜豆阶段相比约减少52.11%。然而,ZYP6-11 可可豆发酵过程中的乙酸含量呈递增趋势,未发酵鲜豆未检测到乙酸,发酵第1天乙酸含量为 $4.17\%\pm 0.56\%$,发酵第6、7天乙酸含量达45%,增长量为发酵第1天的9.73倍(表2~表4)。

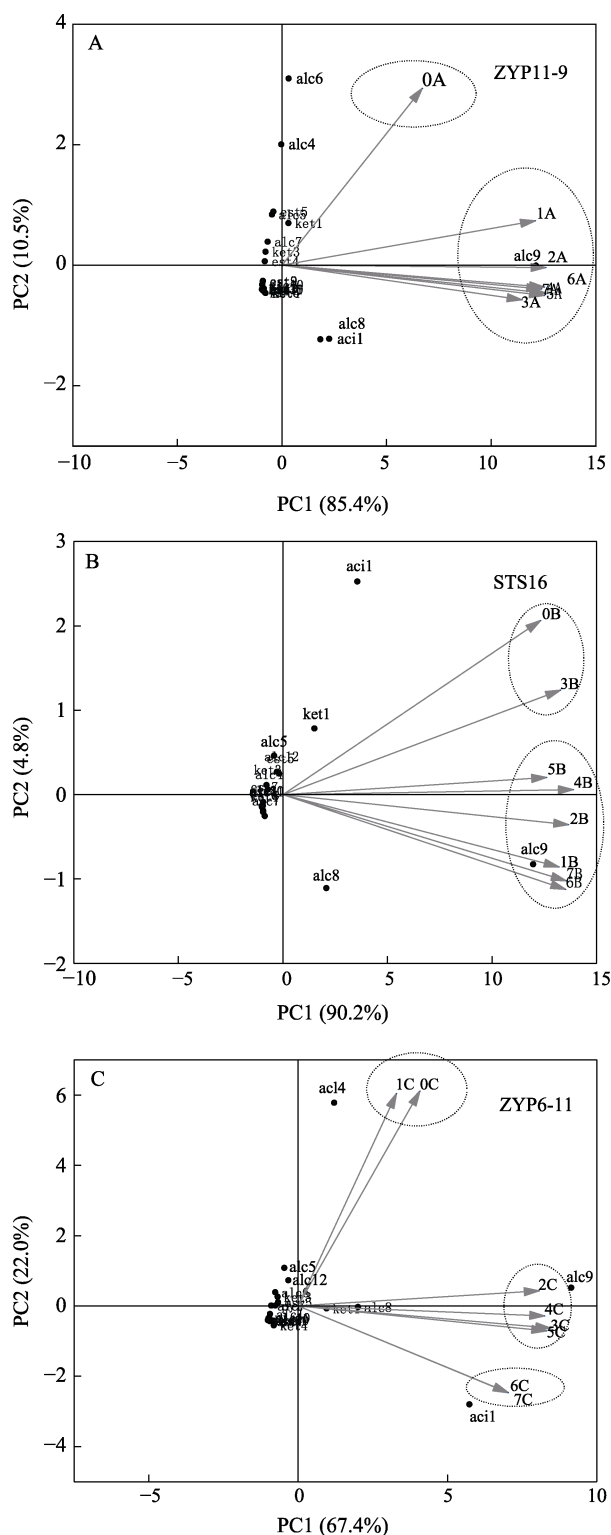
3-羟基-2-丁酮(乙偶姻)是可可、葡萄酒、黄油、草莓和乳制品的重要风味物质,被广泛用作食品增味剂^[21]。3-羟基-2-丁酮在发酵过程中主要作为三甲基吡嗪的前体物质,而三甲基吡嗪为可可豆香气的重要气味活性成分,常散发出坚果味与青草味道^[14]。ZYP11-9 与 STS16 可可豆发酵过程中的3-羟基-2-丁酮相对含量均呈逐渐下降趋势,发酵前后相对含量相比分别减少75.06%和65.02%;ZYP6-11 可可豆发酵过程中的3-羟基-2-丁酮相对含量呈递增趋势,发酵前后相对含量增长50.12%。2,3,5-三甲基吡嗪在ZYP11-9、STS16 可可豆发酵过程中的相对含量均呈递减趋势,其中在ZYP6-11 可可豆中含量下降幅度较大,发酵前后含量减少约82.50%。酯类是仅次于吡嗪类的重要挥发性化合物,主要来源于发酵厌氧阶段有机酸与醇的反应,可提供可可豆的水果风味^[7, 22]。在3种可可豆发酵过程中, γ -丁内酯在ZYP11-9 和 STS16 可可豆未发酵鲜豆中的相对含量分别为 $8.18\%\pm 0.62\%$ 和 $8.56\%\pm 2.13\%$,在发酵第7天分别为 $4.53\%\pm 0.57\%$ 和 $5.62\%\pm 2.49\%$,而 γ -丁内酯在ZYP6-11 可可豆未发酵鲜豆中仅为 $3.99\%\pm 0.43\%$,在发酵第7天为 $2.21\%\pm 0.49\%$ (表2~表4)。

2.3 不同基因型可可发酵过程中主要香气成分分析

对3种基因型可可豆不同发酵阶段挥发性物质进行主成分分析,结果表明,ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 可可豆发酵过程中PC1与PC2的方差总贡献率分别为95.90%、95.00%、89.40%,其主要香气成分相似,与2,3-丁二醇、乙酸、芳樟醇、

2-戊醇、2-庚醇等挥发性香气成分相关性较强,但不同发酵阶段的主要香气成分存在差异。由图5A可知,ZYP11-9 可可豆未发酵鲜豆与发酵过程的挥发性成分存在差异,发酵过程中的2-庚醇、2-戊醇、3-羟基-2-丁酮等挥发性物质含量与鲜豆(0A)的挥发性物质含量呈正相关,其中2-庚醇的相对含量高达 $21.64\%\pm 3.61\%$,其次为2-戊醇 ($14.55\%\pm 2.66\%$) 和3-羟基-2-丁酮 ($8.26\%\pm 1.31\%$);乙酸、2,3-丁二醇、芳樟醇等挥发性物质与发酵时间呈正相关,其中2,3-丁二醇的平均相对含量最高达 $56.54\%\pm 12.00\%$,其次为乙酸 ($14.24\%\pm 3.32\%$) 和芳樟醇 ($12.70\%\pm 2.69\%$)。由图5B可知,STS16 可可豆的乙酸含量与未发酵鲜豆(0B)、发酵第3天(3B)挥发性物质含量呈正相关,未发酵鲜豆中的乙酸含量为 $22.61\%\pm 2.06\%$,在发酵第3天达最高 ($32.37\%\pm 2.62\%$);2,3-丁二醇、芳樟醇、3-羟基-2-丁酮等挥发性物质与STS16 发酵时间呈正相关,其中2,3-丁二醇平均相对含量最高 ($53.26\%\pm 4.51\%$),其次为芳樟醇 ($14.72\%\pm 2.77\%$) 和3-羟基-2-丁酮 ($8.90\%\pm 3.30\%$)。由图5C可知,在ZYP6-11 可可豆发酵过程中,鲜豆(0C)、发酵第1天(1C)挥发性物质主要有2-戊醇、3-甲基-1-丁醇、苯乙醇等,其中2-戊醇相对含量高达 $34.73\%\pm 1.46\%$,其次为3-甲基-1-丁醇 ($8.34\%\pm 1.73\%$) 和苯乙醇 ($6.71\%\pm 0.68\%$);发酵第2~5天的挥发性物质主要为2,3-丁二醇、芳樟醇、3-羟基-2-丁酮等,其中2,3-丁二醇相对含量高达 $52.97\%\pm 16.84\%$,其次为芳樟醇 ($9.41\%\pm 3.91\%$) 和3-羟基-2-丁酮 ($5.74\%\pm 0.69\%$),发酵第6~7天的挥发性物质主要为乙酸、2,3-丁二醇、芳樟醇等,其中乙酸相对含量高达 $45.13\%\pm 2.30\%$,其次为2,3-丁二醇 ($20.08\%\pm 4.58\%$)、芳樟醇 ($16.68\%\pm 7.09\%$)。

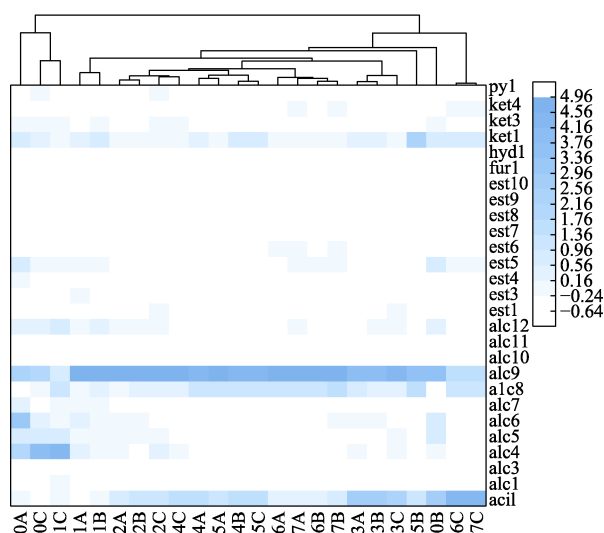
由图6可见,聚类热图直观地呈现了ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 不同基因型可可豆发酵过程中32种挥发性成分的变化差异,第0~4天发酵阶段产生的挥发性物质的变化明显高于第5~7天,2,3-丁二醇、乙酸、芳樟醇、3-羟基-2-丁酮、2-戊醇、2-庚醇、3-甲基-1-丁醇等挥发性香气成分变化显著,这可能与可可发酵中复杂的微生物活动有关。TIGRERO-VACA 等^[23]研究表明,可可豆中部分微生物菌种如酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、近平滑念珠菌(*Candida metapsilosis*)等在发酵过程中的活动有助于产生与果香、花香、巧克力



图中发酵时间编号同表 1；挥发性物质代码同表 2~表 4。
The fermentation time No. in the figure is the same as Tab. 1; The volatile substance codes are the same as those in Tab. 2 to Tab. 4.

图 5 不同基因型可可豆发酵过程中挥发性成分 PCA 分析

Fig. 5 Principal component analysis of volatile components of different genotypes of cocoa beans during fermentation periods



图中发酵时间编号同表 1；挥发性物质代码同表 2~表 4。
The fermentation time No. in the figure is the same as Tab. 1; The volatile substance codes are the same as those in Tab. 2 to Tab. 4.

图 6 不同基因型可可豆发酵过程中挥发性成分的聚类热图

Fig. 6 Clustering heatmap of volatile components of different genotypes of cocoa beans during fermentation periods

味和杏仁味的香气相关的挥发性化合物。

3 讨论

可可挥发性化合物的数量和类型是影响可可品质的重要指标，也决定了可可的商业价值。近年来，在可可豆加工过程中已鉴定和识别的挥发性化合物约有 600 种^[24]。本研究以 ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 可可种质资源为材料，利用 HS-SPME-GC/MS 技术鉴定发现不同基因型可可豆香气成分物质种类主要由醇类、酸类、酯类、酮类、吡嗪类化合物组成，这与秦晓威等^[25]、COUNET 等^[26]的研究结论一致。本研究进一步发现，不同基因型可可豆的香气成分物质种类含量存在差异，其中 ZYP6-11 的醇类含量较高，是 STS16、ZYP11-9 的 1.4 倍；ZYP11-9 的酯类含量较高，是 ZYP6-11 的 3.1 倍；STS16 的酸类物质含量较高，是 ZYP11-9 的 5.7 倍。RODRIGUEZ-CAMPOS 等^[16]研究认为醇类物质是影响可可果香风味的主要成分。其中，2-戊醇具有明显的水果和花卉香气特征，有利于可可制品的品质提高^[27]。本研究结果表明，ZYP6-11 的 2-戊醇相对含量达 34.16%，是 STS16 的 12 倍。STS16 的乙酸相对含量较高，是 ZYP11-9 的 9.3 倍，而 KADOW 等^[28]研究表明，较高的乙酸含量会增强可可制品的酸

味,从而降低品质。此外,在 ZYP6-11 的香气成分中三甲基吡嗪类物质的相对含量较高, RAMLI 等^[29]研究表明,吡嗪类物质表现出坚果味、青草味,具有可可风味增强剂的特性。

可可发酵是一个自发的过程,伴随着挥发性物质的形成,有助于确定芳香可可豆的特性与质量^[8]。本研究中,发酵结束后 ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 的香气物质数量均有所减少,相对含量也有所变化。FRAUENDORFER 等^[30]研究表明,一些短链羧酸如乙酸和异戊酸,在可可豆发酵的香气成分中占主导地位。本研究表明,ZYP6-11 的发酵酸类物质变化幅度较大,在发酵中后期(第 6~7 天)酸类挥发性化合物的相对含量显著增加,是 ZYP11-9、STS16 的 2.46 倍,其发酵具有明显的酸性风味,这些酸类物质的增加可能是可可浆中糖类物质代谢的结果,乙酸可以通过乙醇氧化产生^[31],同时这与 RODRIGUEZ-CAMPOS 等^[32]的研究过程中酸类挥发性化合物相对含量变化一致,表明部分品种可可豆经过长时间发酵(超过 6 d)会增加如乙酸等酸类挥发性物质的含量。此外,在 ZYP11-9 可可豆发酵中存在丙酸类物质,这类物质通常是在发酵结束后由芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)代谢产生,然而由于发酵时间过长引起的过度发酵,也会提高这些酸类物质的浓度^[14]。ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 可可豆发酵过程中有 17 种共有挥发性物质,5 种为醇类,分别为 2-戊醇、3-甲基-1-丁醇、2-庚醇、2,3-丁二醇、苯乙醇,其香气变化特征与 OBERPARLEITER 等^[33]的研究结果一致,表现出较明显的代谢反应。在 3 种基因型可可豆发酵过程中,3-甲基-1-丁醇的相对含量在发酵第 0~4 天均出现明显下降,据 AFOAKWA 等^[34]研究表明,3-甲基-1-丁醇是一种戊醇,在发酵过程中被氧化为乙酸酯,并有助于麦芽风味与巧克力风味的形成。本研究进一步发现,ZYP11-9、STS16 在发酵过程中醇类物质的相对含量均较高,是 ZYP6-11 的 2.1 倍,与 CAMU 等^[35]、GUEHI 等^[36]的研究结论一致,醇类挥发性物质主要由酵母在发酵的厌氧阶段(发酵 48 h)产生,而部分醇则通过氨基酸的热降解产生,并在后期被氧化成酸类或酯类,高含量的醇类挥发性物质则有利于获得带有花香或甜味的可可产品^[18]。酯类与水果风味相关,是仅次于可可中吡嗪类物质的重要的挥发性化合物种类^[37]。本研究表明,ZYP11-9、STS16、ZYP6-11 不同基因型可可豆发

酵的酯类物质相对含量均有所减少,可能是发酵过程中酵母持续代谢的结果^[38]。

4 结论

本研究表明,不同基因型可可豆发酵过程中的挥发性香气成分种类组成相似,由醇类、酸类、酯类、酮类、吡嗪类化合物组成,而部分挥发性香气成分的相对含量变化有差异,其中 2,3-丁二醇、2-庚醇、2-戊醇、3-甲基-1-丁醇、苯乙醇、芳樟醇、乙酸、3-羟基-2-丁酮及 2,3,5-三甲基吡嗪 9 种共有香气物质在不同基因型可可豆发酵过程中的相对含量变化存在显著差异;并且,主要香气成分与发酵时间存在一定相关性,其中 2,3-丁二醇、乙酸、芳樟醇、3-羟基-2-丁酮与可可发酵时间呈正相关,3-甲基-1-丁醇、丁内酯、苯乙酮等香气物质与发酵时间呈负相关。不同基因型可可豆发酵过程中的香气成分组成及含量变化存在一定差异,且主要香气成分与发酵时间存在一定相关性。研究结果为优质可可新品种的选育及应用提供参考依据。

参考文献

- [1] ALVERSON W S, WHITLOCK B A, NYFFELER R, BAYER C, BAUM D A. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data[J]. *American journal of Botany*, 1999, 86(10): 1474-1486.
- [2] 秦晓威,郝朝运,吴刚,李付鹏,赖剑雄.可可种质资源多样性与创新利用研究进展[J]. *热带作物学报*, 2014, 35(1): 188-194.
QIN X W, HAO C Y, WU G, LI F P, LAI J X. Advances on germplasm research and utilization of *Theobroma cacao* L.[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2014, 35(1): 188-194. (in Chinese)
- [3] FAO statistics[EB/OL]. (2022-01-12)[2022-08-20]. <https://faostat.fao.org>.
- [4] ICCO statistics[EB/OL]. (2022-01-12)[2022-08-20]. <https://www.icco.org/fine-or-flavour-cocoa/>.
- [5] KONGOR J E, HINNEH M, VAN DE WALLE D, AFOAKWA E O, BOECKX P, DEWETTINCK K. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile - a review[J]. *Food Research International*, 2016, 82: 44-52.
- [6] MENEZES A G T, BATISTA N N, RAMOS C L, SILVA A R D A, EFRAIM P, PINHEIRO A C M, SCHWAN R F. Investigation of chocolate produced from four different Brazil-

- ian varieties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) inoculated with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Food Research International*, 2016, 81: 83-90.
- [7] QIN X W, LAI J X, TAN L H, HAO C Y, LI F P, HE S Z, SONG Y H. Characterization of volatile compounds in Criollo, Forastero, and Trinitario cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.) in China[J]. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20(10): 2261-2275.
- [8] CASTRO-ALAYO E M, IDROGO-VÁSQUEZ G, SICHE R, CARDENAS-TORO F P. Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa[J]. *Heliyon*, 2019, 5(1): e01157.
- [9] 房一明, 谷风林, 初众, 徐飞, 谭乐和, 赖剑雄. 发酵方式对海南可可豆特性和风味的影响分析[J]. *热带农业科学*, 2012, 32(2): 71-75.
FANG Y M, GU F L, CHU Z, XU F, TAN L H, LAI J X. Effect of fermentation methods on characteristics and flavor of Hainan cacao bean[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2012, 32(2): 71-75. (in Chinese)
- [10] CEVALLOS-CEVALLOS J M, GYSEL L, MARIDUEÑA-ZAVALA M G, MOLINA-MIRANDA M J. Time-related changes in volatile compounds during fermentation of bulk and fine-flavor cocoa (*Theobroma cacao*) beans[J]. *Journal of Food Quality*, 2018, 2018: 1758381.
- [11] 段美玉, 秦晓威, 贺书珍, 李付鹏, 谢薇, 白亭玉, 初众, 赖剑雄. 可可豆罐装发酵过程中挥发性成分变化规律研究[J]. *中国热带农业*, 2021(4): 57-65.
DUAN M Y, QIN X W, HE S Z, LI F P, XIE W, BAI T Y, CHU Z, LAI J X. Study on variation of volatile components in bottled cocoa beans during fermentation process[J]. *China Tropical Agriculture*. 2021(4): 57-65. (in Chinese)
- [12] RAHARDJO Y P, SYAMSU K, RAHARDJA S. Impact of controlled fermentation on the volatile aroma of roasted cocoa[J]. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2022, 25: e2020270.
- [13] 刘大群, 华颖. 基于电子鼻与 SPME-GC-MS 法分析不同脱水方式下萧山萝卜干中的挥发性风味物质[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(2): 281-284.
LIU D Q, HUA Y. Detection of volatile flavor compounds in different dehydrated Xiaoshan pickled radish by SPME-GC-MS and E-nose methods[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(2): 281-284. (in Chinese)
- [14] HEGMANN E, NIETHER W, ROHSIUS C, PHILLIPS W, LIEBEREI R. Besides variety, also season and ripening stage have a major influence on fruit pulp aroma of cacao (*Theobroma cacao* L.)[J]. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 2020, 93: 266-275.
- [15] 谷风林, 房一明, 刘红, 卢少芳, 谭乐和. 可可发酵过程中蛋白质降解与吡嗪类化合物变化分析[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(12): 2267-2272.
GU F L, FANG Y M, LIU H, LU S F, TAN L H. Analysis of protein degradation and pyrazine content change during cocoa fermentation[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2012, 33(12): 2267-2272. (in Chinese)
- [16] RODRIGUEZ-CAMPOS J, ESCALONA-BUENDÍA H B, CONTRERAS-RAMOS S M, OROZCO-AVILA I, JARAMILLO-FLORES E, LUGO-CERVANTES E. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(1): 277-288.
- [17] UTRILLA-VÁZQUEZ M, RODRÍGUEZ-CAMPOS J, AVENDAÑO-ARAZATE C H, GSCHAEGLER A, LUGO-CERVANTES E. Analysis of volatile compounds of five varieties of Maya cocoa during fermentation and drying processes by Venn diagram and PCA[J]. *Food Research International*, 2020, 129: 108834.
- [18] MOTAMAYOR J C, LACHENAUD P, DA SILVA E MOTA J W, LOOR R G, KUHN D N, BROWN J S, SCHNELL R J. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.)[J]. *PLoS One*, 2008, 3(10): e3311.
- [19] DUCKI S, MIRALLES-GARCIA J, ZUMBÉ A, TORNERO A, STOREY D M. Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products[J]. *Talanta*, 2008, 74(5): 1166-1174.
- [20] ZIEGLEDER G. Linalool contents as characteristic of some flavor grade cocoas[J]. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1990, 191(4): 306-309.
- [21] XIAO Z, QIAO S, MA C, PING, X. Acetoin production associated with the increase of cell biomass in *Bacillus pumilus* ATCC 14884[J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2010, 4(19): 1997-2003.
- [22] APROTOSOAIE A C, LUCA S V, MIRON A. Flavor chemistry of cocoa and cocoa products - an overview[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2016, 15(1): 73-91.
- [23] TIGRERO-VACA J, MARIDUEÑA M G, LIAO H L, PRADO M, ZAMBRANO C S, MONSERRATE B, CEVALLOS J M. Microbial diversity and contribution to the formation of volatile compounds during fine-flavor cacao bean fermentation[J]. *Foods*, 2022, 11(7): 915.
- [24] ENGESETH N J, PANGAN M F A. Current context on chocolate flavor development - a review[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2018, 21: 84-91.
- [25] 秦晓威, 李付鹏, 郝朝运, 贺书珍, 赵溪竹, 赖剑雄, 谭乐

- 和, 宋应辉. 不同基因型可可资源挥发性香气成分分析[J]. 热带农业科学, 2018, 38(5): 49-54, 61.
- QIN X W, LI F P, HAO C Y, HE S Z, ZHAO Z X, LAI J X, TAB L H, SONG Y H. Advances on germplasm research and utilization of *Theobroma cacao* L.[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(1): 49-54, 61. (in Chinese)
- [26] COUNET C, OUWERX C, ROSOUX D, COLLIN S. Relationship between procyanidin and flavor contents of cocoa liquors from different origins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(20): 6243-6249.
- [27] QUEIROZ V T, GUIMARÃES C T, ANHERT D, SCHUSTER I, DAHER R T, PEREIRA M G, WRICKE G. Identification of a major QTL in cocoa (*Theobroma cacao* L.) associated with resistance to witches' broom disease[J]. Plant Breeding, 2003, 122(3): 268-272.
- [28] KADOW D, BOHLMANN J, PHILLIPS W, LIEBEREI R. Identification of main fine flavour components in two genotypes of the cocoa tree (*Theobroma cacao* L.)[J]. Journal of Applied Botany and Food Quality, 2013, 86(1): 90-98.
- [29] RAMLI N, HASSAN O, SAID M, SAMSUDIN W, IDRIS N A. Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted *Malaysian cocoa* beans[J]. Journal of food processing and preservation, 2006, 30(3): 280-298.
- [30] FRAUENDORFER F, SCHIEBERLE P. Changes in key aroma compounds of *Criollo cocoa* beans during roasting[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(21): 10244-10251.
- [31] SCHWAN R F, WHEALS A E. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2004, 44(4): 205-221.
- [32] RODRIGUEZ-CAMPOS J, ESCALONA-BUENDÍA H B, OROZCO-AVILA I, LUGO-CERVANTES E, JARAMILLO-FLORES M E. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 250-258.
- [33] OBERPARLEITER S, ZIEGLEDER G. Amyl alcohols as compounds indicative of raw cocoa bean quality[J]. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A, 1997, 204(2): 156-160.
- [34] AFOAKWA E O, PATERSON A, FOWLER M, RYAN A. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: a critical review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2008, 48(9): 840-857.
- [35] CAMU N, DE WINTER T, ADDO S K, TAKRAMA J S, BERNART H, DE VUYST L. Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88(13): 2288-2297.
- [36] GUEHI S T, DABONNE S, BAN-KOFFI L, KEDJEBO D K, ZAHOU L I B. Effect of turning beans and fermentation method on the acidity and physical quality of raw cocoa beans[J]. Advance Journal of Food Science and Technology, 2010, 2(3): 163-171.
- [37] JINAP S, ROSLI W I W, RUSSLY A R, NORDIN L M. Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*) [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998, 77(4): 441-448.
- [38] ACULEY P C, SNITKJAER P, OWUSU M, BASSOMPIERE M, TAKRAMA J, NØRGAARD L, NIELSEN D S. Ghanaian cocoa bean fermentation characterized by spectroscopic and chromatographic methods and chemometrics[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(6): S300-S307.