



Title	Characterization of fine flavor cocoa in parent hybrids combination using metabolomic approach
Author(s)	Afifah, Enik Nurlaili
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/103199
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (Enik Nurlaili Afifah)	
Title	Characterization of fine flavor cocoa in parent hybrids combination using metabolomic approach (メタボロミクスアプローチによる親ハイブリッド組合せにおけるファインフレーバーカカオの特性評価)
<p>Chapter 1: General Introduction. Fine flavor cocoa commands a premium price in the global chocolate market, compelling plant breeders to develop new cacao cultivar with fine flavor profiles while enhancing yield, resistance levels, and flavor quality. Characterization is a crucial step in plant breeding for producing novel cultivar. Fine flavor cocoa is generally characterized by fresh bean color and sensory characteristics. However, these methods cannot be applied to progenies/hybrids because their colors may vary depending on their parents. Additionally, sensory evaluation lacks universal quality standards, necessitating robust complementary characterization methods. These limitations highlight the need for robust complementary characterization methods. Metabolomics is a powerful approach for characterizing agricultural products, enabling the investigation of both volatile and non-volatile compounds that define the flavor profile of cocoa. This study aims to characterize fine flavor cocoa in parent-hybrid combinations using a metabolomic approach. Chapter 2: Investigation of the characteristics of fine flavor cocoa in parent-hybrid combinations through non-volatile metabolite profiling and fresh bean color analysis. The characteristics of fine flavor cocoa resulted from cross breeding has been investigated through non-volatile metabolite profiling, using widely targeted Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and bean phenotype analysis. The result showed that fine flavor cocoa (from Trinitario variety) exhibits white-bean characteristics. Conversely, the hybrids (resulting from crosses with Trinitario) displayed varying percentages of fresh bean color. Caffeine and organic acids such as malic acid, fumaric acid, citric acid, and tartaric acid were found to correspond to the characteristics of fine flavor cocoa. Notably, this study is the first identification of non-volatile compounds, particularly organic acids, as key metabolites in differentiating fine flavor cocoa hybrids from bulk cocoa. Each parent-hybrid combination demonstrated distinct flavor characteristics, with the H1 (ICCR 03 cacao clone) and H2 hybrid (ICCR 09 cacao clone) emerging as a promising cacao cultivar, exhibiting flavor characteristics similar to those of its female parent (fine flavor cocoa). Although both non-volatile and volatile compounds contribute to cocoa's flavor profile, the next chapters will explore further characterization of these selected hybrids, focusing on their volatile composition and sensory attributes. Chapter 3: Correlation between sensory attributes and metabolomic profiles of cocoa liquor to express the characteristics of fine flavor cocoa in parent hybrid combination. The correlation between sensory properties and metabolite profiles, both non-volatile and volatile compounds was investigated using a combined metabolomics-based approach and sensory analysis. The findings revealed that the H2 hybrid (ICCR 09) exhibits distinctive sensory attributes consistent with fine flavor cocoa, including floral, acidic, woody, cocoa, fresh fruit, and browned roast notes. These sensory qualities were linked to higher concentrations of organic acids and sugars (non-volatile compounds), as well as specific volatile compounds such as 3-methylbutanal, 2,3-butanediol, benzaldehyde, linalool, trans-linalool oxide, and isobutyl acetate. These volatiles contributed to the floral, fruity, woody, and roasted flavor notes observed in the H2 hybrid. This study notably identified specific volatile and non-volatile compounds linked to the complex sensory attributes of the H2 hybrid, emphasizing its potential as fine flavor cocoa. Chapter 4: Conclusion and future perspectives. Cacao beans from crossbreeding have been comprehensively characterized using a metabolomics approach to distinguish fine flavor cocoa. Fine flavor cocoa, characterized by a balanced profile of caffeine, organic acids, and key volatiles (e.g., 3-methylbutanal, linalool, benzaldehyde), shows promise, particularly in H2 hybrids with outstanding sensory attributes. This study provides valuable insights for breeding programs and the development of high-quality cocoa. Future research should explore a broader range of cacao hybrids and investigate flavor changes throughout the post-harvest process to further enhance fine flavor cocoa characterization.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (ENIK NURLALI AFIFAH)		
論文審査担当者	(職)	氏名
	主査 教授	福崎 英一郎
	副査 教授	本田 孝祐
	副査 教授	青木 航
論文審査の結果の要旨		
<p>本論文は、カカオ育種において特に高品質チョコレート原料として注目される「ファインフレーバーカカオ」に焦点を当て、親系統およびハイブリッド組合せにおける代謝プロファイルの包括的解析を通じて、その品質特性を明らかにしたものである。ファインフレーバーカカオは、クリオロ種やトリニタリオ種を中心に生産され、特有の芳香や風味を有するため高価格で取引される。しかし、病害虫抵抗性や収量性に劣るクリオロ種の減少や、ハイブリッド系統の風味特性の不確実性が課題となっている。そのため、親系統とハイブリッドの代謝的特徴を科学的に解明し、品質予測や育種選抜に資する知見を得ることは、学術的にも産業的にも重要である。</p> <p>本研究は、インドネシアにおけるカカオ研究機関が育成した複数の親系統および交配ハイブリッドを対象とし、非揮発性代謝物プロファイルと生豆色彩特性の解析（第2章），さらに揮発性成分解析と官能評価を組み合わせた総合的な品質評価（第3章）を行ったものである。広範なGC-MSによるメタボロミクス解析により、カフェイン、有機酸（リンゴ酸、フマル酸、クエン酸、酒石酸）などがファインフレーバー系統を特徴づける重要な代謝物であることが示され、従来クリオロ種にのみ特異的と考えられていた代謝パターンが、トリニタリオ白豆系統および有望なハイブリッドにも存在することが明らかとなった。また、主成分分析やOPLS-回帰解析により、親系統とハイブリッドの代謝物クラスターが明瞭に分離され、特に母系の影響がハイブリッドの風味特性に強く反映されることが示された。これは従来の官能分析では捉えがたい遺伝的寄与を代謝物レベルで証明したものである。</p> <p>さらに、ハイブリッドの中でもH1 (T1×T5) やH2 (T4×T3) は、母系と同様に高いカフェインと有機酸を有し、ファインフレーバーに近い代謝プロファイルを示すことが明らかとなり、有望な育種素材として特定された。一方で、トリニタリオとフォラステロの交雑から生じたH5では、フォラステロ型に近い代謝特性が保持され、風味品質が相対的に劣る可能性が示唆された。加えて、新規に行った生豆色彩と代謝物の相関解析では、白色豆の割合が高い系統ほどカフェインや有機酸が豊富であることが明らかとなり、外観形質と化学的品質指標の間に強い関連が存在することを実証した。この成果は、従来経験的に利用してきた「白豆=高品質」という基準を、代謝科学的に裏付けたものである。</p> <p>第3章においては、非揮発性成分に加え、HS-SPME-GC-MSによる揮発性成分解析と官能評価を統合し、代謝プロファイルと官能評価の相関を解析した。その結果、ファインフレーバーカカオ特有の花香や果実香は、特定の有機酸、アミノ酸、芳香族化合物と高く相関しており、代謝物レベルで風味属性を予測可能であることが示された。これにより、化学分析と官能評価の統合による客観的な品質評価手法の構築に資する重要な知見が得られた。</p> <p>以上のように、本論文はカカオ育種におけるファインフレーバー評価にメタボロミクスを導入し、従来の官能検査や外観評価を補完・発展させる新たなアプローチを提示したものである。研究目的は明確であり、実験設計は合理的、得られた結果の解析も妥当かつ十分である。学術的独創性と実用的意義を兼ね備え、今後のカカオ品質改良研究および高付加価値チョコレート産業の発展に大きく貢献することが期待される。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。</p>		