



Title	Metabolomics analysis of cocoa bean ( <i>Theobroma cacao</i> ) fermentation to reveal conditions related to GABA (gamma-aminobutyric acid) levels
Author(s)	Hanifah, Abu
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/92926">https://doi.org/10.18910/92926</a>
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 ( HANIFAH ABU )

Title

Metabolomics analysis of cocoa bean (*Theobroma cacao*) fermentation to reveal conditions related to GABA (gamma-aminobutyric acid) levels (GABA ( $\gamma$ -アミノ酪酸) 濃度に関連する条件を明らかにするためのカカオ豆 (*Theobroma cacao*) の発酵物のメタボローム解析)

## Abstract of Thesis

GABA (gamma-aminobutyric acid) is a naturally occurring non-proteinogenic amino acid found in various foods and has shown potential benefits as an anti-insomnia, anti-depression, and anti-hypertension agent. Cocoa beans and chocolates are rich sources of GABA, with levels ranging from 31.7 to 101.2 mg/100 g and from 11.1 to 32.5 mg/100 g, respectively. The variation in GABA levels is influenced by factors such as genotype, growth conditions, and fermentation methods. Utilizing low environmental temperatures during fermentation is a natural approach to enhance GABA levels, which is well-received by consumers. However, the impact of low environmental temperatures on GABA levels during cocoa bean fermentation remains unknown. Additionally, the chocolate-making process results in GABA loss due to the Maillard reaction, which contributes to the flavor, aroma, and color of chocolate. The metabolite profile of cocoa beans is influenced by origin and fermentation, leading to variations in sugar composition. The rate of GABA loss during chocolate production using different fermented beans requires further investigation. In this study, raw and fermented cocoa beans from different environmental temperatures were analyzed using GC-MS-based analyses. The analysis revealed a negative correlation between GABA, glycerol, ethanolamine, succinic acid, and minimum/average temperatures. Observations of cocoa bean fermentation under different temperatures showed that low environmental temperatures increased GABA levels. The highest GABA levels were recorded on day 5 of fermentation, possibly due to increased decarboxylation of glutamic acid. Higher levels of organic acids and TCA cycle activity were observed in cocoa bean fermentation under low environmental temperatures. After chocolate-making, GABA levels decreased at varying rates, with sucrose and mannose showing significant negative and positive correlations with GABA loss, respectively. These findings highlight the relationship between cocoa bean fermentation conditions, GABA levels, and the sugar composition in the chocolate-making process. Farmers in tropical highlands can enhance the value of their fermented cocoa beans by adopting low-temperature fermentation. Chocolate makers can consider sugar composition to minimize GABA loss during roasting. Future research should focus on optimizing artificial low-temperature fermentation conditions, utilizing GABA-producing microorganisms, selecting cocoa clones with desired sugar compositions, and investigating enzyme activities related to GABA synthesis.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( HANIFAH ABU )		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主査 教授	福崎 英一郎
	副査 教授	青木 航
	副査 教授	本田 孝祐

## 論文審査の結果の要旨

GABA (γ-アミノ酪酸) は、さまざまな食物源に含まれる天然由来の非タンパク質アミノ酸である。抗不眠、抗うつ、抗高血圧剤としての役割を含め、GABA の潜在的な有益性が研究により実証されている。発酵カカオ豆やチョコレートも GABA 豊富に含む食品の一例である。カカオ豆の GABA 含量を高めるために発酵環境温度は重要な操作変数である。しかし、発酵中の温度環境がカカオ豆の GABA 濃度に与える影響については未知のままであった。本研究では、様々な環境温度で得られた生カカオ豆と発酵カカオ豆を GC/MS ベースの分析にかけたところ、豆の産地による違いが明らかになった。その後、OPLS-R (直交投影潜在構造回帰) 分析を用いて、代謝物プロファイルと豆の産地環境温度との関係を調べた。OPLS-R 分析の結果、最低気温および平均気温と負の相関を示す 4 つの代謝物、すなわち GABA、グリセロール、エタノールアミン、コハク酸が同定された。本研究によって最低温度と平均温度が低いほど、これらの代謝物のレベルが高くなること、乳酸菌が重要な役割を果たしていることが判明した。一方、チョコレートの製造過程では、GABA の一部が失われるが、その損失は、140°C から 165°C の温度で加熱する際に起こるメイラード反応によるものであると考えられているが GABA 濃度を高めるための製造工程は確立されていない。そこで上記で得られた知見をチョコレート産業界で実装するためのさらなる検討を実施した。本研究では、インドネシアの 5 つの異なる産地から発酵カカオ豆を集め、チョコレートを製造した。チョコレートの製造工程は、それぞれのカカオ豆の処理が均一になるように注意深く管理された。その結果、チョコレート製造工程後、GABA 濃度がさまざまな割合で減少することが観察された。ピアソンの相関分析により、GABA の損失と発酵カカオ豆中の還元糖の関係が明らかになった。特に、スクロースは GABA の損失 41% と有意な負の相関を示した。一方、グルコースの C-2 エピマーであるマンノースは、78% の GABA 損失と有意な正の相関を示したが、グルコース自体は有意な相関を示さなかった。したがって、これらの知見は、GABA とマンノースの相互作用が、チョコレート製造工程における GABA の高い損失の主な要因であることを示唆している。上記に示すように本研究は生理活性物質である GABA 含量の高いチョコレートを製造するためにカカオ発酵条件の最適化ならびに、チョコレート製造条件の最適化に言及した極めた重要な報告である。よって本論文は博士論文として価値があるものと認める。