

**PENGEKSTRAKAN SEBATIAN MERUAP DARI
BIJI KOKO MENGGUNAKAN KAEDAH SFE
DAN ANALISIS GC-FID**

DYMPHNA JANE EKOL

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**PROGRAM KIMIA INDUSTRI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2008



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PENGEKSTRAKAN SEBATIAN MERUAP DARI BIJI KOKO MENGGUNAKAN
KAEDAH SFE DAN ANALISIS GC-FID**

DYMPHNA JANE EKOL

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
DENGAN KEPUJIAN DALAM KIMIA INDUSTRI**

**SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
KOTA KINABALU**

MEI, 2008



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PENGIEKSTRAKAN SEBATIAN MEKUAP DARI BIJI KOKO MENCIUNAKAN
KAEDAH SFE DAN ANALISIS GC-FID.

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUSJIAN DLM KIMIA INDUSTRI

SESI PENGAJIAN: 05/06 - 07/08

Saya DYMPHNA JANE EKOL

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Dymphna

(TANDATANGAN PENULIS)

Disahkan oleh **NURULAIN BINTI ISMAIL**

Nurulain

LIBRARIAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: NO. 28, LORONG 1,
TAMBUKUEW, FASE 9, 88200,

K.K, SABAH

Nama Penyelia

Tarikh: 14/05/08

Tarikh: _____

- CATATAN:
- * Potong yang tidak berkenaan.
 - ** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.
 - @ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.



DYMPHNA JANE EKOL

HS2005 – 3849

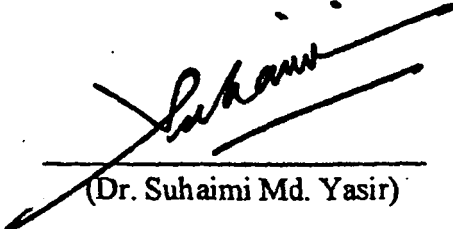
MEI, 2008




PENGESAHAN

Nama: Dymphna Jane Ekol

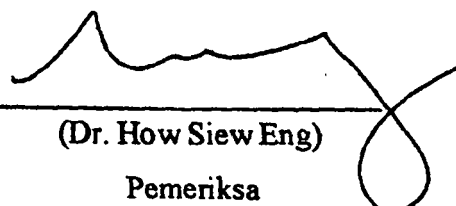
Tajuk: Pengekstrakan Sebatian Meruap Dari Biji Koko Menggunakan Kaedah SFE dan Analisis GC-FID



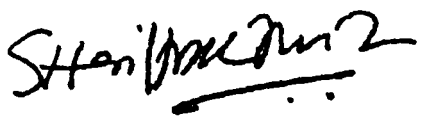
(Dr. Suhaimi Md. Yasir)
Penyelia



(Prof. Madya Dr. Marcus Jopony)
Pemeriksa



(Dr. How Siew Eng)
Pemeriksa



(Supt. Prof. Madya Dr. Shariff A.K.S Omang)
Dekan,
Sekolah Sains dan Teknologi

MEL, 2008



PENGHARGAAN

Pertama sekali saya ingin mengucapkan syukur kepada Tuhan kerana dengan berkat dan kesabaran yang diberikanNya, saya telah berjaya menyiapkan penulisan disertasi ini dengan baik walaupun terdapat pelbagai masalah dan cabaran yang harus ditempuhi pada saat-saat akhir.

Ribuan terima kasih juga diucapkan kepada Dr. Suhaimi Md. Yasir atas bimbingan, tunjuk ajar, dan bantuan yang beliau berikan sepanjang penulisan disertasi ini. Di samping itu, saya juga ingin berterima kasih kepada pihak Institut Penyelidikan Borneo Tropika dan pihak Institut Penyelidikan Marin Borneo di atas penggunaan mesin SFE dan mesin GC. Juga tidak dilupakan Dr. Noumie Surugau, P.M. Dr. Marcus Jopony, dan para pensyarah program Kimia Industri yang telah memberi bimbingan sepanjang penulisan disertasi ini dijalankan.

Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada keluarga dan insan tersayang atas dorongan dan bantuan yang diberikan, serta rakan-rakan yang banyak bertolak ansur, memahami, memberi sokongan, dan bersama-sama bertungkus-lumus untuk menyiapkan kerja projek ini.

Sekian, terima kasih.



ABSTRAK

Kesesuaian pengekstrakan sebatian meruap biji koko menggunakan kaedah Pengekstrakan Bendalir Superkritikal (SFE) telah dikaji pada jangka masa pengestrakan dan jenis pelarut yang berlainan. Jangka masa pengekstrakan yang dipilih ialah 10, 20, 30, dan 40 minit manakala pelarut ialah larutan diklorometana dan metanol. Kromatogram dari analisis kromatografi gas menunjukkan bahawa intensiti puncak sebatian yang diekstrak meningkat dengan masa pengekstrakan. Pengekstrakan menggunakan larutan metanol sebagai larutan perangkap analit menunjukkan intensiti dan kepelbagaian puncak sebatian yang lebih tinggi berbanding larutan diklorometana. Akan tetapi, sebatian yang dikaji iaitu 2,3-dimetilpirazina, 2,5-dimetilpirazina, dan 2,6-dimetilpirazina tidak dikesan dalam sampel koko yang telah diekstrak.



ABSTRACT

Extraction of volatile compounds from cocoa beans using Supercritical Fluid Extraction method—A GC-FID analysis.

Volatile compounds from cocoa nibs were extracted according to Supercritical Fluid Extraction (SFE) method at different extraction time and types of solvent. The extraction time selected was 10, 20, 30, and 40 minutes, while the solvents were dichloromethane and methanol. The chromatograms obtained from gas chromatography showed an increase in peak intensity with extraction time. Extraction using methanol as the co-solvent produced higher peak intensity and peak detection than dichloromethane. However, the pirazine compound studied, 2,3-dimethylpirazine, 2,5-dimethylpirazine, and 2,6-dimethylpirazine were not detected in the extracted cocoa samples.



KANDUNGAN

	Muka surat
HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xiii
SENARAI SIMBOL	xiv
SENARAI LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	4
1.3 Skop kajian	4
BAB 2 KAJIAN LITERATUR	5
2.1 Pemprosesan koko	5



2.1.1	Pemrosesan primer	6
	a. Fermentasi	6
	b. Pengeringan	8
2.1.2	Pemrosesan sekunder	9
	a. Pemanggangan	9
2.2	Pembentukan sebatian perisa dan aroma	11
2.3	Sebatian meruap koko	15
2.4	Bendalir superkritikal (<i>Supercritical fluid</i>)	16
2.5	Kegunaan lain bendalir superkritikal	20
2.6	Kaedah pengekstrakan lain	22
	2.6.1 Headspace (HS)	22
	2.6.2 Likens-Nickerson	23
	2.6.3 Thin-Layer High-Vacuum Distillation (TLHVD)	24
BAB 3	BAHAN DAN KAEDAH	28
3.1	Bahan	28
3.2	Penyediaan serbuk koko	28
	3.2.1 Pemanggangan	28
3.3	Kaedah analisis	30
	3.3.1 Penentuan peratus kandungan kelembapan	30
	3.3.2 Alat SFE	31
	a. Analisis statistik	33
	b. Pengekstrakan koko menggunakan SFE	33
3.4	Penentuan kandungan sebatian meruap pirazina	35



3.4.1	Kromatografi gas	35
3.4.2	Penentuan puncak	38
3.4.3	Penyediaan larutan piawai dan keluk kalibrasi	38
BAB 4	KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	40
4.1	Penentuan masa penahanan sebatian pirazina piawai	41
4.1.1	Penentuan masa penahanan sebatian pirazina dalam pelarut diklorometana dan metanol	41
4.1.2	Analisis bagi pengekstrakan menggunakan pelarut diklorometana dan metanol	49
4.2	Faktor jangka masa pengekstrakan	51
4.3	Faktor jenis pelarut	57
4.4	Keluk kalibrasi	58
BAB 5	KESIMPULAN	59
	RUJUKAN	60
	LAMPIRAN	67



SENARAI JADUAL

	Muka surat
Jadual 2.1 Perbandingan antara sifat-sifat bendalir superkritikal dengan cecair dan gas	18
Jadual 2.2 Senarai kegunaan bendalir superkritikal dalam <i>Supercritical Fluid Extraction</i>	21
Jadual 2.3 Perbandingan antara kaedah-kaedah pengekstrakan sebatian perisa koko yang biasa digunakan	25
Jadual 3.1 Pembahagian sampel mengikut masa pengekstrakan yang berbeza	34
Jadual 3.2 Parameter pengoperasian kromatografi gas	37
Jadual 4.1 Keputusan hasil pengekstrakan mengikut jangka masa pengekstrakan yang berbeza.	56



SENARAI RAJAH

	Muka surat
Rajah 2.1 Ringkasan bagi pemprosesan koko	6
Rajah 2.2 Contoh bagi langkah pertama yang berlaku semasa tindak balas Maillard	12
Rajah 2.3 Mekanisme pembentukan sebatian perisa isovaleraldehid melalui tindak balas Maillard	12
Rajah 2.4 Pembentukan sebatian perisa melalui tindak balas Maillard	13
Rajah 2.5 Struktur sebatian pirazina yang didapati hadir dalam serbuk koko	16
Rajah 2.6 Graf fasa tekanan melawan suhu bagi CO ₂	17
Rajah 3.1 Kaedah penyediaan sampel	30
Rajah 3.2 Sistem tipikal <i>flame ionization detector</i>	36
Rajah 4.1 Kromatogram bagi pelarut diklorometana	42
Rajah 4.2 Kromatogram pelarut diklorometana dengan sebatian 2,6-dimetilpirazina 1000 ppm	42
Rajah 4.3 Kromatogram pelarut diklorometana dengan sebatian 2,3-dimetilpirazina 1000 ppm	43
Rajah 4.4 Kromatogram pelarut diklorometana dengan sebatian 2,5-dimetilpirazina 1000 ppm	43
Rajah 4.5 Kromatogram larutan piawai pirazina (2,3-DMP, 2,5-DMP dan 2,6-DMP) 1000 ppm dalam diklorometana	44
Rajah 4.6 Kromatogram bagi pelarut metanol	45
Rajah 4.7 Kromatogram pelarut metanol dengan sebatian 2,6-dimetilpirazina 1000 ppm	45



Rajah 4.8	Kromatogram pelarut metanol dengan sebatian 2,3-dimetilpirazina 1000 ppm	46
Rajah 4.9	Kromatogram pelarut metanol dengan sebatian 2,5-dimetilpirazina 1000 ppm	46
Rajah 4.10	Kromatogram larutan piawai pirazina (2,3-DMP, 2,5-DMP dan 2,6-DMP) 1000 ppm dalam metanol	47
Rajah 4.11	Struktur kimia sebatian pirazina yang dikaji	48
Rajah 4.12	Perbandingan kromatogram bagi pengekstrakan koko selama 30 minit dengan larutan piawai pirazina diklorometana 100 ppm	49
Rajah 4.13	Perbandingan kromatogram bagi pengekstrakan koko selama 30 minit dengan larutan piawai pirazina metanol 100 ppm	50
Rajah 4.14	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 10 minit menggunakan pelarut diklorometana	51
Rajah 4.15	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 20 minit menggunakan pelarut diklorometana	52
Rajah 4.16	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 30 minit menggunakan pelarut diklorometana	52
Rajah 4.17	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 40 minit menggunakan pelarut diklorometana	53
Rajah 4.18	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 10 minit menggunakan pelarut metanol	53
Rajah 4.19	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 20 minit menggunakan pelarut metanol	54
Rajah 4.20	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 30 minit menggunakan pelarut metanol	54
Rajah 4.21	Kromatogram koko dengan jangka masa pengekstrakan 40 minit menggunakan pelarut metanol	55



SENARAI FOTO

	Muka surat
Foto 3.1 <i>Mesin Supercritical Fluid Extraction</i>	32
Foto 3.2 Botol pengumpul khas bagi hasil ekstrak	33
Foto 3.3 Mesin kromatografi gas (GC-2010 Shimadzu) yang digunakan	36



SENARAI SIMBOL

%	Peratus
°C	Suhu darjah celsius
<i>p</i>	Tekanan
T	Suhu
A	Ampere
mm	Milimeter
mL	Mililiter
μL	Mikroliter
ppm	Parts per million
mg	Miligram
g	Gram
Kg	Kilogram
sm	Sentimeter
m	Meter
s	Saat
DMP	Dimetilpirazina
CO ₂	Karbon dioksida
H ₂	Hidrogen
H ₂ O	Molekul air
CH ₃ OH	Metanol
VOC	Sebatian organik meruap
SFE	Pengekstrakan Bendalir Superkritikal
GC	Kromatografi gas
FID	Pengesan nyalaan ion
MS	Spektrometri jisim



SENARAI LAMPIRAN

	Muka surat	
Lampiran 1	Beberapa jenis sebatian meruap utama yang dikenalpasti dalam serbuk koko panggang	67
Lampiran 2	Ciri-ciri kritikal pelarut superkritikal yang lain	69
Lampiran 3	Penentuan peratus kandungan kelembapan sampel koko	70
Lampiran 4	Penyediaan larutan piawai individu	72
Lampiran 5	Penyediaan larutan piawai sebatian-sebatian pirazina	73



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Koko atau nama saintifiknya *Theobroma cacao*, merupakan sumber utama atau bahan mentah utama yang digunakan dalam penghasilan pelbagai jenis produk seperti serbuk koko, coklat, dan sebagainya. Koko mengandungi mentega koko (45 – 54%), protin (11.5%), sebilangan kecil theobromin, dan juga kafeina, masing-masing terdiri daripada 1.2 – 1.8% dan 0.26% (Mohamed *et al.*, 2002). Buah koko berbeza mengikut saiz, bentuk, dan warna luaran. Ciri-ciri ini selalu digunakan untuk mengklasifikasi jenis-jenis koko. Selain itu, koko juga merupakan sumber bagi penghasilan mentega koko yang bermutu tinggi di mana mentega koko ini banyak diaplikasikan dalam industri kosmetik dan juga bidang yang berkaitan dengan farmasi (Mohamed *et al.*, 2002).

Koko dimakan bukan sahaja kerana nilai-nilai nutrisi yang terkandung di dalamnya, malah disebabkan oleh perisa dan aromanya yang unik. Perisa memainkan ciri yang sangat penting dalam produk-produk koko. Kualiti perisa dan aroma sesuatu koko dilaporkan mempunyai kaitan dengan sifat atau kandungan genetik biji koko itu (Lopez



dan Dimick, 1995). Rasa coklat manis, rasa pahit yang kuat, buah-buahan, dan floral merupakan tanggapan perisa dan aroma yang paling istimewa dalam serbuk koko (Bonvehí, 2005).

Dalam industri perdagangan koko, koko terbahagi kepada dua kategori iaitu “pukal” dan “halus”. Koko “pukal” diperoleh daripada pelbagai jenis koko Forastero-Amelonado. Koko jenis “pukal” mempunyai perisa coklat yang sederhana berbanding jenis “halus” manakala Criollos dan Trinitarios mempunyai aroma dan perisa koko yang kuat. Bahan pelopor perisa dihasilkan ketika proses fermentasi dan pengeringan biji koko. Buah koko yang telah masak akan dituai dan seterusnya dibelah bagi mendapatkan bijinya. Pada tahap ini, biji koko yang baru dituai adalah pahit disebabkan oleh kehadiran sejenis bahan kimia yang dikenali sebagai tannin (Heath dan Reineccius, 1986). Biji koko yang mentah atau tidak diproses tidak mempunyai aroma atau rasa koko yang sebenar. Perisa hanya dibentuk melalui tiga proses utama dalam proses lepas tuai iaitu fermentasi, diikuti dengan pengeringan dan pemanggangan (Heath dan Reineccius, 1986).

Fermentasi ialah satu proses biokimia yang menghasilkan bahan kimia baru contohnya alkohol daripada gula melalui aktiviti mikroorganisma (Hidayatullah, 2006). Proses fermentasi koko bertujuan untuk mewujudkan bahan pelopor perisa yang akan memberi perisa coklat semasa pemaggangan. Selain itu, fermentasi juga akan dapat mematikan biji koko, membuang lapisan lendir, memudahkan pengeringan serta mencegah percambahan biji dan pemecahan bentuk (Hidayatullah, 2006).



Selepas melalui proses fermentasi, kandungan lembapan biji koko adalah dalam lingkungan 55%. Bagi penyimpanan biji koko yang selamat kandungan lembapan adalah sekitar 6 – 7% (Hidayatullah, 2006). Proses pengeringan bukanlah semata-mata mengurangkan kandungan lembapan biji malahan juga merupakan lanjutan daripada proses fermentasi. Ini disebabkan segala perubahan kimia yang berlaku semasa proses fermentasi tidak akan berhenti semasa proses pengeringan sehinggalah kandungan lembapan turun ke 8% yang mana enzim-enzim eksopeptida dan ektopeptida tidak lagi aktif. Selain daripada itu, pengeringan juga menyumbang kepada pembentukan warna pada isi biji koko. Terdapat dua jenis teknik pengeringan yang kerap dipraktikkan iaitu teknik penjemuran dan teknik pengeringan tiruan (Hidayatullah, 2006).

Proses pemanggangan akan membentuk profil perisa atau aroma koko yang diingini (Heath dan Reineccius, 1986). Semasa proses pemanggangan, produk awal hasil daripada proses fermentasi akan ditukar melalui tindak balas Maillard, penyusunan semula Amadori, dan pemecahan Strecker, ke kompleks-kompleks sebatian yang terdiri daripada sebatian meruap karbonil, pirazina, dan sebagainya. Keadaan suhu semasa proses pemanggangan bergantung kepada jenis pemanggang itu sendiri tetapi suhu yang selalu digunakan adalah di antara 115° - 140°C. Akan tetapi, dalam kajian ini, suhu pemanggangan yang diguna pakai adalah 145°C yang juga merupakan suhu optimum bagi pemanggangan biji koko (Sanagi *et al.*, 1997).

Kebanyakan kajian-kajian terdahulu menumpukan kepada analisis dan pengecaman sebatian-sebatian meruap dengan menggunakan kaedah pengekstrakan yang



biasa digunakan seperti *Linkens Nickerson*, *Headspace Solid Phase Microextraction*, *High Vacuum Distillation*, dan *Solvent Extraction* atau *Liquid-Liquid Extraction*. Kaedah-kaedah ini terbukti berkesan dalam mengekstrak sebatian meruap yang terkandung dalam tumbuhan dan makanan (Bonvehí, 2005; Krings *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2007; Fedrizzi *et al.*, 2007).

1.2 Objektif kajian

Objektif kajian ialah mengenalpasti samada jangka masa pengekstrakan dan jenis pelarut yang digunakan mempengaruhi intensiti sebatian meruap pirazina dalam sampel koko yang telah dipanggang.

1.3 Skop Kajian

Skop kajian adalah untuk mengekstrak sebatian perisa meruap dalam koko dengan menggunakan kaedah Pengekstrakan Bendalir Superkritikal atau *Supercritical Fluid Extraction* (SFE). Hasil ekstrak akan diperangkap dengan menggunakan dua jenis pelarut atau larutan perangkap analit iaitu metanol dan diklorometana. Jangka masa pengekstrakan 10, 20, 30, dan 40 minit digunakan. Faktor jangka masa pengekstrakan dan faktor jenis pelarut dijalankan untuk mengkaji kesannya terhadap sebatian perisa meruap dalam hasil ekstrak.



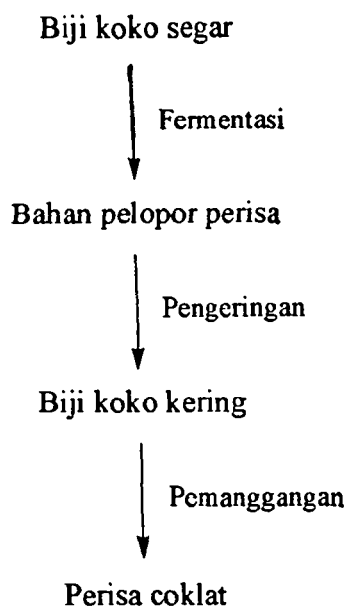
BAB 2

KAJIAN LITERATUR

2.1 Pemprosesan koko

Koko merupakan suatu perisa makanan yang amat dihargai di dunia. Ia boleh didapati dalam pelbagai jenis warna, rasa, dan digunakan dalam pelbagai aplikasi. Koko juga diminati oleh semua golongan masyarakat termasuklah dari golongan tua mahupun yang muda. Pemprosesan koko secara amnya melibatkan tiga proses utama iaitu proses fermentasi, pengeringan, dan pemanggangan (Lopez dan Dimick, 1995). Rajah 2.1 menunjukkan ringkasan bagi pemprosesan koko.

Serbuk koko yang berkualiti tinggi diklasifikasikan sebagai mempunyai ciri bebas alir (*free-flowing*), stabil dan sekata dalam warna serta rasa, dan mempunyai kualiti mikrobiologikal yang baik. Pemilihan biji-biji koko dan pengawalan parameter-parameter pemprosesan merupakan faktor yang penting dalam penghasilan produk koko yang berkualiti (Lopez dan Dimick, 1995).



Rajah 2.1 Ringkasan bagi pemprosesan koko (Hidayatullah, 2006).

2.1.1 Pemprosesan primer

Pemprosesan primer melibatkan proses penuaian, proses fermentasi, dan juga proses pengeringan.

a. Fermentasi

Biji-biji koko yang diliputi oleh pulpa akan dikeluarkan daripada buah-buah koko yang baru dituai dan kemudiannya difermentasikan. Menurut Hidayatullah (2006), teknik-teknik fermentasi yang selalu dipraktikkan di Malaysia ialah penggunaan kotak cetek, penyesuaian awal pulpa, penyebaran biji, gabungan di antara penyimpanan buah dan penyebaran biji, serta penyesuaian awal pulpa dan pengeringan perlahan (*Sime Cadbury*

Process). Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi adalah kemasakan buah, jenis koko, kualiti biji atau kedalaman, jangkamasa fermentasi, dan pembalikan (Hidayatullah, 2006). Pemanjangan proses fermentasi akan menyebabkan kehilangan bahan pelopor aroma yang berharga (Stewart dan Rohan, 1976).

Proses fermentasi melibatkan aktiviti mikroorganisma ke atas lapisan lendir yang menghasilkan alkohol, asid asetik, asid laktik dan haba yang menyebabkan biji koko mati. Bahan-bahan kimia tersebut akan menyerap masuk ke dalam kotiledon dan kemudiannya mencetuskan tindak balas biokimia di dalam biji koko (Hidayatullah, 2006). Dengan itu, tindak balas antara enzim dan substrat berlaku; kanji berpecah menjadi gula manakala protin dipecahkan menjadi beberapa rantaian peptida. Monosakarida (contohnya fruktosa dan glukosa) dan asid amino (contohnya leusin, alanin, fenilalanin dan tirosin) yang terhasil merupakan bahan pelopor perisa bagi koko (Amin *et al.*, 1997; Amin *et al.*, 1998; Asep *et al.*, 2008). Jenis dan bilangan pirazina yang dikesan dalam biji koko adalah berbeza mengikut teknik fermentasi yang digunakan (Jinap *et al.*, 1994).

Sebagai rumusan dalam proses fermentasi, biji koko segar akan melalui transformasi kompleks iaitu: (1) gula dari pulpa biji mengalami metabolisma pantas dan menghasilkan asid organik meruap serta tidak meruap; (2) pemecahan protein untuk menghasilkan rantaian peptida dan asid amino bebas; (3) pengoksidaan bahan polifenol untuk menghasilkan sebatian tidak larut terutamanya o-quinones dan, (4) hidrolisis glikosida terutamanya antosianin (Bonvehí dan Coll, 1997a; Bonvehí dan Coll, 1997b; Bonvehí dan Coll, 1998; Bonvehí, 2005).



RUJUKAN

- Amin, I., Jinap, S., and Jamilah, B. 1997. Vicilin-class Globulin and Their Degradation during Cocoa Fermentation. *Journal of Food Chemistry* **59**: 1-5.
- Amin, I., Jinap, S., and Jamilah, B. 1998. Proteolytic Activity (aspartic endoproteinase and carboxypeptidase) of Cocoa Bean During Fermentation. *Journal of Science Food and Agriculture* **76**: 123-128.
- Arlorio, M., Coisson, J.D., Travaglia, F., Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G., and Martelli, A. 2005. Antioxidant and Biological Activity of Phenolic Pigments from *Theobroma cacao* Hulls Extracted with Supercritical CO₂. *Journal of Food Research International* **38**: 1009 - 1014.
- Asep, E.K., Jinap, S., Tan, T.J., Russly, A.R., Harcharan, S., and Nazimah, S.A.H. 2008. The Effect of Particle Size, Fermentation and Roasting of Cocoa Nibs on Supercritical Fluid Extraction of Cocoa Butter *Journal of Food Engineering* **85**: 450-458.
- Baker, D.M., Tomlins, K.I., Gay, C. 1994. Survey of Ghanaian Cocoa Farmer Fermentation Practices and Their Influence in Cocoa Flavour. *Journal of Food Chemistry* **51**: 425-431.
- Bicchi, C., Cordero, C., Liberto, E., Rubiolo, P., and Sgorbini, B. 2004. Automated Headspace Solid-Phase Dynamic Extraction to Analyse the Volatile Fraction of Food Matrices. *Journal of Chromatographic A* **1024**: 217-226.
- Boekel, M.A.J.S.v. 2006. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Journal of Biotechnology Advances* **24**(2): 230-233



- Bonvehí, J.S. 2005. Investigation of Aromatic Compounds in Roasted Cocoa Powder. *Europe Food Research Technology* **221**: 19-29.
- Bonvehí, J.S. and Coll, F.V. 1997a. Parameters Affecting the Quality of Processed Cocoa Powder: Acidity Fraction. *Z Lebensm Unters Forsch A* **204**: 287-292.
- Bonvehí, J.S. and Coll, F.V. 1997b. Evaluation of Bitterness and Astringency of Polyphenolic Compounds in Cocoa Powder *Journal of Food Chemistry* **60**(3): 365-370.
- Bonvehí, J.S. and Coll, F.V. 1998. Evaluation of Smoky Taste in Cocoa Powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**: 620-624.
- Bonvehí, J.S. and Coll, F.V. 2000. Evaluation of Purine Alkaloids and Diketopirazines Contents in Processed Cocoa Powder. *Europe Food Research Technology* **210**: 189-195.
- Bonvehí, J.S. and Coll, F.V. 2002. Factors Affecting the Formation of Alkylpyrazine during Roasting Treatment in Natural and Alkalinized Cocoa Powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 3743-3750.
- Brunner, G. 2005. Supercritical Fluids: Technology and Application to Food Processing *Journal of Food Engineering* **67**: 21-33.
- Daferera, D., Pappas, C., Tarantilis, P.A., and Polissiou, M. 2002. Quantitative Analysis of α -pinene and β -myrcene in Mastic Gum Oil using FT-Raman Spectroscopy. *Journal of Food Chemistry* **77**: 511-515.



- Ducki, S., Miralles-Garcia, J., Zumbé, A., Tomero, A., and Storey, D.M. 2008. Evaluation of Solid-Phase Microextraction Coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry for the Headspace Analysis of Volatile Compounds in Cocoa Products. *Talanta* 74: 1166-1174.
- Fedrizzi, B., Versini, G., Lavagnini, I., Nicolini, G., and Magno, F. 2007. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Determination of 3-mercaptohexan-1-ol and 3-mercaptohexyl acetate in Wine A Comparison of Headspace Solid Phase Microextraction and Solid Phase Extraction Method. *Analytica Chimica Acta* 596: 291-297.
- Frauendorfer, F. and Schieberle, P. 2006. Identification of Key Aroma Compounds in Cocoa Powder Based on Molecular Sensory Correlations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 5521-5529.
- Hashim, L. and Chaveron, H. 1994. Extraction and Determination of Methylpyrazines in Cocoa Beans using Coupled Steam Distillation-Microdistillator. *Journal of Food Research International* 27(6): 537-544.
- Heath, H.B. and Reineccius, G. 1986. *Flavor Chemistry and Technology*. Macmillan Publishers Ltd., USA. Pp. 239-241, 256-257.
- Hidayatullah H. 2006. Ciri-ciri Fizikal yang Mempengaruhi Kualiti Biji Koko. In *Kursus Penggredan Biji Koko Kering (Bukan Penggred) 2006*. Pp. 1-22. Lembaga Koko Malaysia, Pusat Penyelidikan dan Pembangunan Koko, Tawau, Sabah.
- Jinap, S., Harun, S.M., and Ghazali, N.M. 1994. Formation of Methyl Pyrazine During Cocoa Bean Fermentation *Petanika Journal of Tropical Agriculture Science* 17(1): 27-32.



- Jinap, M.S., Jamilah, B., and Nazamid, S. 2004. Effect of Polyphenol Concentration on Pyrazine Formation During Cocoa Liquor Roasting. *Journal of Food Chemistry* **85**: 73-80.
- Jousse, F., Jongen, T., Agterof, W., Russell, S., and Braat, P. 2002. Simplified Kinetic Scheme of Flavor Formation by the Maillard Reaction. *Journal of Food Science* **67**: 2534-2542.
- King, J.W. 1989. Fundamentals and Application of Supercritical Fluid Extraction in Chromatographic Science. *Journal of Chromatographic Science* **27**: 355-364.
- King, J.W. 2002. Supercritical Fluid Extraction: Present Status and Prospects. *Grasas y Aceites* **53**: 8-21.
- Kirchhoff, P.M., Biehl, B., and Crone, G. 1989. Peculiarity of the Accumulation of Free Amino Acids during Cocoa Fermentation. *Journal of Food Chemistry* **31**(4): 295-311.
- Krings, U., Zelena, K., Wu, S., and Berger, R.G. 2006. Thin-Layer High-Vacuum Distillation to Isolate Volatile Flavour Compounds of Cocoa Powder. *Europe Food Research Technology* **223**: 675-681.
- Lopez, A.S. and Dimick, P.S. 1995. *Biotechnology Second Completely Revised Edition*. VCH Publication Inc., NY. Pp. 562-576.
- Mandel, F.S. and Wang, J.D. 1999. Manufacturing of Specialty Materials in Supercritical Fluid Carbon Dioxide. *Inorganica Chimica Acta* **294**: 214-223.
- Marentis, R. and James, K. 2001. Processing Pharmaceuticals with Supercritical Fluid. In *4th Brazilian Meeting on Supercritical Fluids EBFS 2001*.



- Markom, M. and Hui, T.W. 2007. Solubility Prediction of Low Volatile Solute in Supercritical Carbon Dioxide in the Absence of Saturation Pressure Data. *Journal of Supercritical Fluids* **40**: 170-175.
- Mohamed, R.S. and Mansoori, G.A. 2002. The Use of Supercritical Fluid Extraction Technology in Food Processing. In *Food Technology Magazine*.
- Mohamed, R.S., Saldana, M.D.A., Mazzafera, P., Zetzl, C., and Brunner, G. 2002. Extraction of Caffeine, Theobromine, Cocoa Butter from Brazilian Cocoa Beans Using Supercritical Carbon Dioxide and Ethane. *Journal of Industrial Engineering Chemistry Research* **41**: 6751-6758.
- Munanairi, A., O'Banion, S.K., Gamble, R., Breuer, E., Harris, A.W., and Sandwick, R.K. 2007. The Multiple Maillard Reactions of Ribose dan Deoxyribose Sugars and Sugar Phosphate. *Carbohydrate Research* **342**: 2575-2592.
- Nor Qamarina Hashim, 2007. Analisa Sebatian-sebatian Perisa daripada Biji Koko Sihat dan Berjangkit Selepas Pemangangan. In *Sekolah Sains & Teknologi*. Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu.
- Perego, P., Fabiano, B., Cavicchioli, M., and Borghi, M.D. 2004. Cocoa Quality and Processing: A Study by Solip-phase Microextraction and Gas Chromatography Analysis of Methylpyrazines. *Journal of Food and Bioproducts Processing* **84(C4)**: 291-297
- Pinelo, M., Sineiro, J., and Núñez, M.J. 2006. Mass Transfer during Continuous Solid-Liquid Extraction of Antioxidants from Grape Byproducts. *Journal of Food Engineering* **77**: 57-63.



- Poinot, P., Grua-Priol, J., Arvisenet, G., Rannou, C., Semenou, M., Bail, A.L., and Prost, C. 2007. Optimisation of HS-SPME to Study Representativeness of Partially Baked Bread Odorant Extracts *Journal of Food Research International* **40**: 1170-1184.
- Rabe, S., Krings, U., Banavara, D.S., and Berger, R.G. 2002. Computerized Apparatus for Measuring Dynamic Flavor Release from Liquid Food Matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 6440-6447.
- Redgwell, R.J., V.Trovato, and D.Curti. 2003. Cocoa Bean Carbohydrates: Roasting-Induced Changes and Polymer Interaction. *Journal of Food Chemistry* **80**: 511-516.
- Reid, R.C., Prausnitz, J.M., and Poling, B.E. 1987. *The Properties of Gases and Liquid*. McGraw Hill, NY. Pp. 332.
- Rohan, T.A. and Stewart, T. 1967. The Precursors of Chocolate Aroma: Production of Free Amino Acids during Fermentation of Cocoa Beans. *Journal of Food Science* **32**: 395-398.
- Saldaña, M.D.A., Mohamed, R.S., and Mazzafera, P. 2002a. Extraction of Cocoa Butter from Brazilian Cocoa Beans Using Supercritical Carbon Dioxide and Ethane. *Journal of Fluid Phase Equilibria* **194-197**: 885-894.
- Saldaña, M.D.A., Zetzel, C., Mohamed, R.S., and Brunner, G. 2002b. Extraction of Methylxanthines from Guarana Seeds, Mate Leaves, and Cocoa Beans Using Supercritical Carbon Dioxide and Ethanol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 4820-4826.



- Salina Ab. Razak, 2001. Kesan Suhu dan Masa yang Berbeza Terhadap Pembentukan Sebatian-sebatian Pirazina Semasa Pemangangan Biji Koko. In *Sekolah Sains & Teknologi*. Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu.
- Sanagi, M.M., Hung, W.P., and Yasir, S.M. 1997. Supercritical Fluid Extraction of Pyrazines in Roasted Cocoa Beans Effect of Pod Storage Period. *Journal of Chromatographic A* **785**: 361-367.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., and Nieman, T.A. 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. Saunders College Publishing, USA. Pp. 702, 712-716.
- Stark, T., Bareuther, S., and Hofmann, T. 2006. Molecular Definition of the Taste of Roasted Cocoa Nibs (Theobroma Cacao) by Means of Quantitative Studies and Sensory Experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**: 5530-5539.
- Tian, H.Y., Zhang, J., Sun, B.G., Huang, M.Q., Li, J.R., and Han, X.X. 2007. Preparation of Natural Isovaleraldehyde by the Maillard Reaction. *Chinese Chemical Letters* **18**: 1049-1052.
- Venter, M.J., Willems, P., Kuipers, N.J.M., and Haan, A.B.d. 2006. Gas Assisted Mechanical Expression of Cocoa Butter from Cocoa Nibs and Edible Oils from Oilseeds. *Journal of Supercritical Fluids* **37**: 350-358.
- Zhang, C., Qi, M., Shao, Q., Zhou, S., and Fu, R. 2007. Analysis of the Volatile in Ligusticum Chuanxiong Hort. using HS-SPME-GC-MS. *journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **44**: 464-470.
- Ziegler, G. 1991. Composition of Flavor Extracts from Raw and Roasted Cocoas. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* **192**(6): 521-525.

