

两种前处理方法在云南小粒咖啡香气成分分析中的对比

周斌, 任洪涛, 秦太峰

(云南省香料研究开发中心, 云南昆明 650051)

摘要: 为了研究云南小粒咖啡的香气成分, 采用正己烷、二氯甲烷、甲醇三种溶剂超声提取法和同时蒸馏萃取法对云南小粒咖啡中的香气成分进行了提取, 采用了气相色谱-质谱联用仪对云南小粒咖啡中的香气成分进行了分析检测。采用不同溶剂超声提取法, 共分离鉴定了 53 种成分, 提取到的主要成分是酯类, 并且随着溶剂极性的增加, 提取的香气成分总类也在增加。采用同时蒸馏萃取法提取分离了 88 种香气成分, 主要提取物是糠醇 (32.80%)、糠醛 (6.37%)、5-甲基呋喃醛 (7.63%)、2-甲基吡嗪 (4.67%)、2-乙基-5-甲基呋喃 (3.64%)、2-乙基吡嗪 (1.10%)、N-甲基-2-吡咯甲醛 (1.27%) 等。从分析结果看出不同提取方法提取的香气成分有显著差别, 可以分别在不同的研究工作中应用。

关键词: 云南小粒咖啡; 香气成分; 不同溶剂超声提取; 同时蒸馏萃取; 气相色谱-质谱法

文章篇号: 1673-9078(2013)7-1716-1720

Effect of Two Extraction Methods on Aromatic Constituents of Coffee Arabica in Yunnan Province

ZHOU Bin, REN Hong-tao, QIN Tai-feng

(Yunnan Flavor & Fragrance Research & Development Center, Kunming 650051, China)

Abstract: The coffee Arabica in Yunnan was extracted by two different methods, ultrasonic extraction with three solvents (hexane, dichloromethane and methanol), and simultaneous distillation extraction (SDE). The aromatic constituents of the extracts were identified by GC-MS. The analytical results showed that 53 compounds were identified by ultrasonic-assisted solvent extraction. The main compounds were esters. The numbers of aroma components were increased along with the increase of the solvent polarity. 88 Compounds were identified by SDE. The main aromatic compounds were 2-furanmethanol (32.780%), furfural (6.37%), 2-furancarboxaldehyde, 5-methyl-furan aldehyde (7.63%), 2-methyl-pyrazine (4.67%), 2-ethyl-5-methyl-furan (3.64%), 2-ethyl-pyrazine (1.10%), N-methyl-2-pyrrole formaldehyde (1.27%). The results showed an evident difference in aromatic constituents of coffee Arabica by different extraction methods.

Key words: Coffee arabica in Yunnan province; aromatic constituents; different solvents ultrasonic extraction; simultaneous distillation extraction; GC-MS

咖啡树是属茜草科常绿小乔木, 产于热带、亚热带的常绿小乔木或灌木。咖啡有三原种: 小粒种为 Arabica, 中粒种为 Robusta, 大粒种为 Liberica。咖啡豆是特色热带农产品, 其产量、消费量、产值均居世界三大饮料作物之首。当前咖啡已成为国际贸易总量最大的农产品之一。这几年, 咖啡在中国的产量和消费量持续增长^[1]。

中国咖啡的产地是云南和海南, 其中98%的咖啡出自云南。云南种植的主要是小粒咖啡, 具有“浓而不苦, 香而不烈、略带果酸味”的特点, 可与世界最好

的咖啡-蓝山咖啡相媲美, 曾被国际咖啡组织 (ICO) 评为一类产品^[2-4]。

国内对于云南小粒咖啡有研究, 但是主要集中在适应性栽培研究、丰产栽培研究、病虫害研究、抗病选育研究等方面^[5-8]。现在国内对于咖啡香气的研究较少。陈祎平^[9]等研究人员采用水上蒸馏的方法分离了 31 种化合物, 采用柱色谱的方法分离鉴定了 26 种化合物; 詹家芬^[10]等研究人员采用两种方法对老挝咖啡的挥发和半挥发成分进行了提取分析; 钟科军^[11]等研究人员采用正己烷萃取法鉴定了咖啡香精中的 21 种化合物。同时蒸馏萃取法和超声提取法是较成熟的提取方法, 对不同样品进行了提取分析^[12-13]。在本研究中采用正己烷、二氯甲烷、甲醇三种不同极性的溶剂, 使用超

收稿日期: 2013-02-27

基金项目: 云南省应用基础研究面上项目 (2011FZ095)

作者简介: 周斌 (1977-), 男, 副研究员, 研究方向: 食品分析化学

声提取和同时蒸馏萃取法对云南小粒咖啡中的香气成分进行了提取,采用了气相色谱-质谱联用仪对云南小粒咖啡中的香气成分进行了分析检测。两种方法提取的香气成分是不同的。不同极性的溶剂提取的香气成分也是不同的。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

1.1.1 仪器及色谱条件

PE GC/MS CLARUS600 气质联用仪;同时蒸馏萃取器;步琪 R3 旋转蒸发仪。

色谱条件:气相毛细管柱为:HP-5MS60 m×0.32 mm×0.25 μm 弹性石英毛细管柱;载气:氦气;进样口温度:250 °C;柱流速1.2 mL/min,进样量1 μL;分流比:30:1;升温程序:起始温度50 °C(保持5 min),按5 °C/min升到250 °C,保持10 min;离子源:EI;气质接口温度:280 °C;离子源温度:230 °C;四级杆温度:150 °C;电子倍增器电压:1894 v;电子能量:70 ev。

1.1.2 主要样品及试剂

云南小粒咖啡(已烘焙)、正己烷、二氯甲烷、甲醇、无水硫酸钠、蒸馏水

1.2 实验方法

1.2.1 不同溶剂超声提取法

各称取样品10 g放入三角瓶中,分别加入80 mL正己烷、二氯甲烷、甲醇。超声提取30 min,过滤,脱水后浓缩至1 mL,用GC-MS分析。

1.2.2 同时蒸馏萃取法

称取30 g样品放入同时蒸馏萃取器中,加入300 mL蒸馏水;同时蒸馏萃取器的另一边加入30 mL二氯甲烷,提取3 h,提取液脱水后,浓缩至1 mL,用GC-MS分析。

2 结果与分析

2.1 总离子流图

将各种方法的提取浓缩液用GC-MS分析,图1是采用不同溶剂超声提取的香气成分总离子流图对比图;从上向下分别是甲醇、二氯甲烷、正己烷超声提取物的总离子流图;图2是采用同时蒸馏萃取法提取的云南小粒咖啡香气成分总离子流图。

2.2 香气成分分析结果

对不同溶剂超声提取法和同时蒸馏萃取法提取的云南小粒咖啡香气成分进行GC-MS分析,通过与标准谱图对照、分析,发现不同方法、不同溶剂提取的香气成分差别较大。采用三种溶剂超声提取法的分析

结果见表1;采用同时蒸馏萃取法的分析结果见表2。

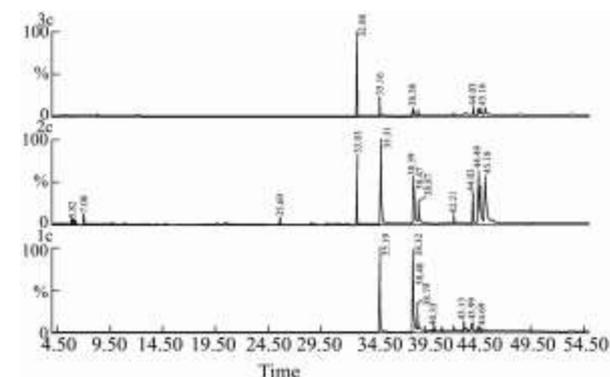


图1 不同溶剂超声提取的香气成分总离子流图对比图

Fig.1 Total ion current chromatogram of Coffea arabica in Yunnan province by different solvents ultrasonic extraction

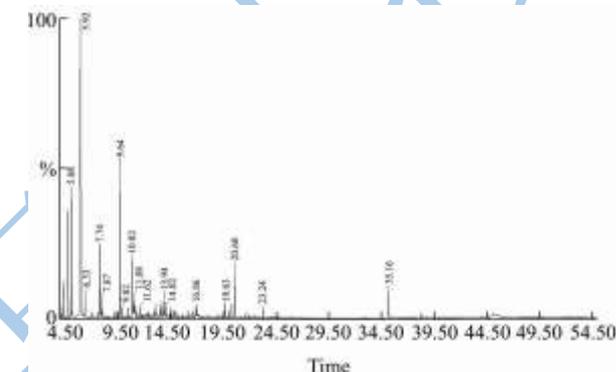


图2 同时蒸馏萃取法提取的云南小粒咖啡香气成分总离子流图

Fig.2 Total ion current chromatogram of Coffea arabica in Yunnan province extracted by SDE

表1 采用不同溶剂超声法提取的云南小粒咖啡香气成分表(%)

Table 1 The main compounds of Coffea arabica in Yunnan province by different solvents ultrasonic extraction

序号	保留时间/min	化合物中文名称	含量/%	含量/%	含量/%
			%A-1	%A-2	A-3
1	4.34	3-甲基-3-丁烯酸			0.14
2	4.55	乙酸丁酯		0.03	
3	4.74	2-甲基吡嗪		0.12	0.38
4	5.08	糠醛		0.13	0.63
5	5.82	3-呋喃甲醇		0.62	0.64
6	6.04	乙基苯		0.46	
7	6.28	对二甲苯		0.44	
8	6.33	乙酰基丙酮		0.05	
9	7.01	苯乙烯		1.00	
10	7.08	乙基苯		0.13	
11	7.60	(E,E)-2,4-己二烯醛		0.03	
12	7.70	2,5-二甲基吡嗪		0.11	0.13
13	7.75	2-乙基-5-甲基呋喃		0.03	0.13

转下页

接上页

14	8.00	2,3-二甲基吡嗪	0.07		
15	8.31	己酸甲酯		0.66	
16	9.50	苯甲醛	0.04	0.03	0.26
17	9.64	5-甲基呋喃醛		0.14	0.38
18	9.70	2,3-戊二酮		0.04	
19	10.33	己酸			0.20
20	10.82	乙酸糠酯		0.16	0.09
21	11.08	N-甲基-2-吡咯甲醛		0.03	
22	11.85	4-羟乙基咪唑乙磺酸		0.03	0.12
23	11.99	桉叶油醇			0.65
24	12.04	2-乙酰基吡啶			0.15
25	12.21	5-甲基-2-乙酰基呋喃			0.72
26	13.04	3-乙酰基吡咯		0.03	
27	13.61	3-乙基-2,5-甲基吡嗪		0.04	
28	13.94	邻甲氧基苯酚		0.03	0.14
29	14.02	乙基环戊烯醇酮		0.03	
30	14.66	2-甲基-3-羟基-4-吡喃酮		0.07	
31	14.74	八氢-4,7-亚甲基苯并呋喃			0.29
32	18.01	11-氧杂三环辛烷[4,3,1,1(2,5)]十一碳-3-戊烯-10-醇			0.20
33	19.53	2,6-二羟基苯乙酮		0.03	
34	20.60	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚		0.12	
35	25.69	2,6-二叔丁基对甲酚		0.62	0.18
36	31.13	肉豆蔻酸		0.03	
37	32.99	咖啡因	0.04	10.40	34.50
38	35.16	棕榈酸	33.33	23.79	10.30
39	37.27	硬脂酸烯丙酯		0.15	
40	38.32	亚油酸	23.93	7.98	3.56
41	38.40	油酸	11.43	4.71	3.53
42	38.79	硬脂酸	6.91	2.73	2.01
43	39.11	17-十八炔酸		1.48	0.32
44	40.33			2.27	
45	42.15	二十酸		2.02	1.63
46	43.13			1.94	
47	43.21	6,9,12-十八碳三烯-1-醇		1.11	
48	43.35			2.47	
49	43.62	单硬脂酸甘油酯		0.56	
50	43.88	亚油酸异丙酯		1.24	
51	44.04			4.02	3.17
52	44.50			14.18	5.98
53	45.18	5-孕甾烯-3 β -醇-20-酮三氟乙酸	1.93	23.54	10.86

注: A-1 是采用正己烷超声提取法、A-2 是采用二氯甲烷超声提取法、A-3 是采用甲醇超声提取法。

从表1中可以看出,用不同的溶剂超声提取的香气成分是不相同的。

表2 采用同时蒸馏萃取法提取的云南小粒咖啡香气成分表(%)

Table1 The main compounds of Coffee arabica in Yunnan province by SDE

序号	保留时间/min	化合物中文名称	百分含量/%
1	4.16	4-羟基-3-己酮	0.52
2	4.31	2-甲基四氢呋喃-3-酮	1.63
3	4.74	2-甲基吡嗪	4.67
4	5.09	糠醛	6.37
5	5.92	糠醇	32.80
6	6.28	对二甲苯	0.12
7	6.33	乙酸基丙酮	1.04
8	7.01	苯乙烯	0.30
9	7.17	3-溴-3-甲基丁酸	0.14
10	7.60	(E,E)-2,4-己二烯醛	0.33
11	7.70	2,5-二甲基吡嗪	0.95
12	7.75	2-乙基-5-甲基呋喃	3.64
13	7.87	2-乙基吡嗪	1.10
14	8.00	2,3-二甲基吡嗪	0.41
15	8.35	2-甲基-3-己酮	0.08
16	8.50	2-环己烯-1-酮	0.09
17	9.09	2-(1-羟基-1-甲基-2-(2H)呋喃酮	0.35
18	9.34	2-正丁基呋喃	0.34
19	9.50	苯甲醛	0.33
20	9.64	5-甲基呋喃醛	7.63
21	9.70	2,3-戊二酮	1.01
22	9.82	1-乙酰氧基-2-丁酮	0.50
23	10.12	3,5-辛二烯-2-酮	0.08
24	10.39	对羟基苯甘氨酸	0.52
25	10.47	2-甲基四氢噻吩-3-酮	0.13
26	10.82	乙酸糠酯	3.55
27	10.93	2-乙基-5-甲基吡嗪	0.42
28	10.99	2,3,5-三甲基吡嗪	0.24
29	11.08	N-甲基-2-吡咯甲醛	1.27
30	11.28	2-吡咯甲醛	0.53
31	11.62	1-乙酰基-1,4-二氢吡啶	0.67
32	11.75	2-环戊烯-1-酮缩乙醛	0.13
33	11.85	4-羟乙基咪唑乙磺酸	0.15
34	12.04	2-乙酰基吡啶	0.19
35	12.21	5-甲基-2-乙酰基呋喃	0.16
36	12.27	2,3-二甲基-2-环戊烯酮	0.47
37	12.42	苯乙烯	0.28

转下页

接上页			80	22.84	2,6,6-三甲基-1-环己烯基乙醛	0.09	
38	12.86	间甲酚	0.56	81	23.24	α -呋喃亚甲基- α -呋喃甲胺	0.58
39	13.04	3-乙酰基吡咯	0.80	82	24.00	1-氨基-4,6-二甲基-2-氧代- 1,2-二氢吡啶-3-腈	0.09
40	13.11	1-甲基-3-(1-甲基乙基)环己烯	0.30	83	24.34	2-羟基-5-甲氧基-1-吡啶甲胺	0.08
41	13.45	2-乙酰基-1-甲基吡咯	0.60	84	24.78	N-(2-苯乙基)(2E,6Z,8E)-十磺酰胺	0.13
42	13.61	3-乙基-2,5-甲基吡嗪	1.01	85	26.13	2-(1,1-二氟甲基)-1-(1-甲基乙基)环戊烷	0.08
43	13.79	2,2'-呋喃基甲烷	0.33	86	35.16	棕榈酸	2.07
44	13.86	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	0.13	87	38.28	11,14-二十碳二烯酸甲酯	0.28
45	13.94	邻甲氧基苯酚	1.16	88	39.11	17-十八炔酸	0.13
46	14.02	乙基环戊烯醇酮	0.50	从表 2 中可以看出使用该方法共分离鉴定了 88 个化合物,其中以糠醇(32.80%)、糠醛(6.37%)、5-甲基呋喃醛(7.63%)、2-甲基吡嗪(4.67%)、2-乙基-5-甲基呋喃(3.64%)、2-乙基吡嗪(1.10%)、N-甲基-2-吡咯甲胺(1.27%)、棕榈酸(2.07%)、4-乙基-2-甲氧基苯酚(2.71%)、3-乙基-2,5-甲基吡嗪(1.01%)等化合物为主。含有大量的呋喃、吡嗪、吡啶、吡咯类化合物。			
47	14.16	4-甲基-4-庚烯-3-酮	0.20				
48	14.32	1-甲基-2,3-二氧杂二环	0.10	3 结论			
49	14.37	3-乙烯基-3-甲基环戊酮	0.16	3.1 使用了极性不同的溶剂超声提取法和同时蒸馏萃取法对云南小粒咖啡的香气成分进行了提取,并用 GC-MS 进行分析检测,从表 1 和表 2 可以看出使用正己烷、二氯甲烷和甲醇超声提取时,提取的香气成分是不同的,采用超声提取法和同时蒸馏提取法提取分析的结果相差较大。这主要是因为两种方法的原理不相同。超声提取法主要是利用超声波的空化作用、机械效应和热效应等加速胞内有效物质的释放、扩散和溶解,提高提取效率的提取方法。比溶剂浸提效率高。试验了咖啡中的香气成分在不同溶剂中的溶解性。同时蒸馏萃取法是利用了溶剂蒸汽与含有样品成分的水蒸汽的充分混合后,成分在两相间转移,在反复循环中实现高效萃取。			
50	14.50	2,3,6,7-四氢-4-杂氧庚烯环甲酸乙酯	0.64	3.2 当使用超声提取时,正己烷主要提取物是大分子的酯类和酸类;二氯甲烷和甲醇的主要提取物也是大分子的酸类和酯类,也提取了一部分香气成分。使用该方法时,有一部分成分含量大,但是无法准确定性。			
51	14.74	八氢-4,7-亚甲基苯并呋喃	0.49	3.3 采用同时蒸馏萃取法时对于香气成分提取较好,从表 2 看出,该方法主要提取物是醛类、酮类、酯类、醇类以及呋喃、吡嗪、吡啶、吡咯类含氮化合物,能够反映云南小粒咖啡中的特征香气,特别对于一些小分子香气成分的提取较好。但是也有一些咖啡中的主要成分无法提取出,比如咖啡因。这主要是因为咖啡因溶解度小、沸点高,没有蒸馏出。从结果可以看出同时蒸馏萃取法对于一些低沸点的疏水性化合物具			
52	14.88	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	0.34				
53	14.93	1-戊基吡咯	0.24				
54	15.27	2-甲基-5-丙酰呋喃	0.17				
55	15.53	5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊并吡嗪	0.18				
56	15.63	十一醛	0.11				
57	16.10	2,5-二甲基-3-丙基吡嗪	0.36				
58	16.21	反式 1-乙亚基八氢-7a 甲基-1H-茛	0.08				
59	16.35	2-正庚基呋喃	0.13				
60	16.39	4-(3-羟基-1-丙烯基)苯酚	0.08				
61	16.52	3-乙烯基-2,2-环丙烷甲酸	0.33				
62	16.62	2-(2-甲基丙烯基)环己酮	0.13				
63	16.86	1-糠基吡咯	0.63				
64	16.94	2-甲基-5-丙酰呋喃	0.40				
65	17.17	4-(2-丙烯基)-苯酚乙酸酯	0.10				
66	17.60	马鞭草烯酮	0.10				
67	18.01	11-氧杂三环辛烷[4,3,1,1(2,5)] 十一碳-3-戊烯-10-醇	0.27				
68	19.10	4-羟基-1,5-萘啶	0.22				
69	19.53	2,6-二羟基苯乙酮	0.29				
70	19.64	4-乙基-2-甲氧基苯酚	0.72				
71	20.04	2,3-二氢-1-(2-甲基)-3-吡啶	0.43				
72	20.29	二糠基醚	0.68				
73	20.38	4-羟基-3-甲基苯乙酮	0.17				
74	20.60	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	2.71				
75	21.64	4-羟基-7-甲基-1,8-萘啶-3-羧酸乙酯	0.32				
76	21.91	6-亚氨基-6-氧基-5,7-二甲基-1,3- 二氧三环萘烷	0.09				
77	22.02	异丁香酚	0.15				
78	22.28	2',5'-二羟基苯丙酮	0.11				
79	22.51	3,3,4-三甲腈-2,3-二氢-5-氨基呋喃	0.12				

有很好的提取效率,对于高沸点的水溶性化合物提取效率一般,适用于复杂样品中易挥发成分的提取、分离、浓缩。

3.4 总的来说,这两种方法各有特点。如果是对香气成分进行分析时,同时蒸馏萃取法更适用。因为该方法提取物的分析结果中成分较多,能够反映咖啡中的特征香气。而溶剂超声提取法可以适用于一些特殊成分的提取。

参考文献

- [1] 孙娟,熊惠波.世界咖啡产销情况及中国咖啡产业发展分析[J].世界业,2010,2:38-40
- [2] 李维锐.云南咖啡产业发展现状及今后发展对策[J].热带农业科技,2009,32(1):26-28
- [3] 郭容琦,罗心平,李国鹏,等.云南小粒咖啡产业发展现状分析[J].广东农业科学,2009,3:209-211
- [4] 周艳飞,陈治华.运转产业链加快云南咖啡产业发展[J].中国热带农业,2010,5:27-30
- [5] 张国庆.咖啡豹蠹蛾生物学特性的初步研究[J].安徽农学通报,2009,15(1):8-9
- [6] 何红艳,文志华,李国鹏.咖啡采后处理及初加工技术[J].广东农业科学,2008,12:119-120
- [7] 李国鹏,何红艳,罗心平,等.咖啡营养特性及营养诊断研究进展[J].中国农学通报,2009,25(1):248-250
- [8] 黄家雄,李贵平.咖啡遗传育种研究近展[J].西南农业学报,2008,21(4):1178-1181
- [9] 陈祎平,梁振益,林尤全,等.咖啡油香气成分的初步分析[J].食品科学,2004,25(11):230-232
- [10] 詹家芬,陆舍铭,曲国福,等.老挝咖啡的挥发和半挥发性成分提取分析[J].食品研究与开发,2008,29(2):125-128
- [11] 钟科军,魏万之,郭方道,等.GC-MS及主成分分析法用于咖啡香精的指纹图谱分析和微差样品的识别[J].分析实验室,2006,25(8):119-122
- [12] 周斌,任洪涛,秦太峰,等.不同提取方法在滇红香气成分分析中的对比研究[J].现代食品科技,2011,27(7):850-855
- [13] 宋国胜,胡送青,李琳.超声波技术在食品科学中的应用与研究[J].现代食品科技,2008,24(6):609-612