

酿酒酵母介导的半干法加工咖啡豆风味品质比较分析

黄梅^{1,2}, 胡荣锁^{2*}, 董文江^{2*}, 程金焕³, 何红艳³, 陈小爱², 龙宇宙², 黄家雄³, 陈罡⁴, 陈舰飞⁴

(1. 宁夏大学食品与葡萄酒学院, 宁夏银川 750021) (2. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南省特色热带作物适宜性加工与品质控制重点实验室, 国家重要热带作物工程技术研究中心, 海南万宁 571533) (3. 云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所, 云南保山 678000) (4. 普洱富民农业装备有限公司, 云南普洱 665000)

摘要: 该研究以脱皮后湿咖啡豆为原料, 用不同类型酿酒酵母 CMCC 1793、CMCC 1425、CMCC 1557、CMCC 32762、四种混合菌与未接种处理对半干法加工的咖啡样品进行处理, 经过干燥、脱壳、烘焙得到中度烘焙豆, 样品编号分别为 GK、HK、JK、ZK、MK、CK。采用顶空固相微萃取气相色谱/质谱联用 (HS-SPME/GC-MS)、香气活度值 (OAV)、感官评价及理化特性对样品进行评价。结果表明: 不同酿酒酵母所接种的烘焙豆中挥发性物质存在差异, 共鉴定出 81 种挥发性化合物。其中 CK 49 种、GK 52 种、HK 50 种、JK 52 种、MK 58 种和 ZK 46 种, 含量分别为 301.03、286.31、223.15、333.05、262.22、372.51 $\mu\text{g/g}$ 。其中吡嗪类化合物在 JK 样中含量最高达到 122.99 $\mu\text{g/g}$, 酮类化合物在 JK 样中总含量居于第二位, 含量达到 53.02 $\mu\text{g/g}$ 。OAV 分析表明, OAV 值不小于 1 的物质有 12 种, 其中以 3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-乙酰基吡咯、2,5-二甲基吡嗪在 JK 样中 OAV 值较高, 这些化合物对咖啡香气体系的贡献作用较大。感官评价分析表明, 接种酿酒酵母所得咖啡样品杯品得分整体上均高于未接种样品, JK 余韵、均衡感得分均高于其它。综上所述, CMCC 1557 菌可以作为咖啡半干法加工过程中的最适微生物发酵剂。这也为咖啡初加工工艺升级改进及产品风味品质提供了理论依据和技术支撑。

关键词: 咖啡; 酿酒酵母; 混合发酵; 风味品质

文章编号: 1673-9078(2023)04-249-262

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.0522

Comparative Analysis of Flavor Quality of Semi-dry Processed Coffee Beans Mediated by *Saccharomyces cerevisiae*

HUANG Mei^{1,2}, HU Rongsuo^{2*}, DONG Wenjiang^{2*}, CHEN Jinhuan³, HE Hongyan³, CHEN Xiaoi², LONG Yuzhou², HUANG Jiexiong³, CHEN Gang⁴, CHEN Jianfei⁴

(1.School of Food and Wine Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)(2.Spice and Beverage Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Suitability Processing and Quality Control of Characteristic Tropical Crops, National Engineering Research Center for Important Tropical Crops, Wanning 571533, China)(3.Tropical and Subtropical Cash Crops Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Baoshan 678000, China)(4.Pu'er Fumin Agricultural Equipment Co. Ltd., Pu'er 665000, China)

Abstract: Semi-dry dehulled coffee beans were treated with different *Saccharomyces cerevisiae* CMCC1793, CMCC1425, CMCC1557, CMCC32762 strains to ascertain differences in the volatile compounds under exposure. Beans were dried, shelled, and medium-roasted to obtain six samples: GK, HK, JK, ZK, MK, and CK, which were then subjected to headspace solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME/GC-MS), odor activity value (OAV), sensory evaluation and physicochemical characteristics for evaluation. The results showed that different yeast strains inoculated coffee beans had differences in volatile compounds. A total of 81 volatile compounds were identified. CK had 49, GK had 52, HK had 50, JK had 52, MK had 58 and ZK had 46, with contents of 301.03, 286.31, 223.15, 333.05, 262.22, 372.51 $\mu\text{g/g}$. Pyridine compounds were the highest in JK samples, reaching 122.99 $\mu\text{g/g}$, and ketone compounds were the second highest, reaching 53.02 $\mu\text{g/g}$. OAV analysis showed that 12 substances had OAV values not less than 1, of which 3-ethyl-2,5-dimethylpyridine, 2,6-dimethylpyridine, 2-acetylpyrrole, and 2,5-dimethylpyridine had high OAV values in JK samples. These compounds contributed significantly to the coffee aroma system. Sensory evaluation analysis showed that the cup quality scores of coffee samples inoculated with yeast were generally higher than those of non-inoculated samples, and JK aftertaste and balance scores were higher than others. In conclusion, CMCC 1557 yeast can be used as the most suitable microbial fermentation agent in the semi-dry processing of coffee. This also provides theoretical basis and technical support for the upgrade of coffee primary processing technology and product flavor quality.

引文格式: 黄梅,胡荣锁,董文江,等.酿酒酵母介导的半干法加工咖啡豆风味品质比较分析[J].现代食品科技,2023,39(4):249-262.

HUANG Mei, HU Rongsuo, DONG Wenjiang, et al. Comparative analysis of flavor quality of semi-dry processed coffee beans mediated by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(4): 249-262.

收稿日期: 2022-04-27

基金项目: 海南省自然科学基金面上项目 (320MS107); 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2021XDNY147); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1630142022010)

作者简介: 黄梅 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: hm2543523877@126.com

通讯作者: 胡荣锁 (1982-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 热带作物加工, E-mail: hnhrs@126.com; 共同通讯作者: 董文江 (1985-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品化学、化学计量学, E-mail: dongwenjiang.123@163.com

spectrometry (HS-SPME/GC-MS), odor activity value (OAV), and sensory evaluation, after which the physical and chemical characteristics were used to evaluate the samples. The results showed different volatile compounds for roasted beans inoculated with different *S. cerevisiae* strains, and of the 81 volatile compounds identified, 49, 52, 50, 52, 58, and 46 volatile compounds were identified in CK, GK, HK, JK, MK, and ZK with contents of 301.03, 286.31, 223.15, 333.05, 262.22, and 372.51 $\mu\text{g/g}$, respectively. Pyrazine compound content was highest in JK at 122.99 $\mu\text{g/g}$, with ketone compounds the second highest at 53.02 $\mu\text{g/g}$. OAV analysis indicated the presence of 12 compounds with OAV values not less than one, of which 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine, 2-acetylpyrrole and 2,5-dimethyl pyrazine showed the highest values in JK. These compounds contribute greatly to the coffee aroma system. Sensory evaluation showed that coffee samples inoculated with *S. cerevisiae* generally had higher scores than the uninoculated samples, and the scores for aftertaste and balance were higher in JK than the other coffee samples. In conclusion, CMCC 1557 is the most suitable microbial starter for the semi-dry processing of coffee. This study provides a theoretical basis and technical support for upgrading and improving the primary processing and flavor quality of coffee.

Key words: coffee; *Saccharomyces cerevisiae*; mixed fermentation; flavor quality

咖啡为茜草科 (Rubiaceae) 咖啡属 (*Coffea*) 植物^[1], 多年生常绿灌木或小乔木^[1], 原产自非洲埃塞俄比亚。咖啡在中国主要种植在海南和云南省^[2], 由于其具有特殊香气以及多种活性成分, 深受消费者青睐。主要含有咖啡因、葫芦巴碱、绿原酸等化合物, 在烘焙过程中生成香气化合物主要是由于发生了美拉德反应、焦糖化褐变等一系列反应。相比于传统湿法加工处理, 在半干法咖啡加工过程中由于微生物作用会引起风味前体物质间的转化, 促使加工出的咖啡具有明显优越的风味品质。目前该加工方法在我国咖啡主产区正在逐步推广, 产品受到消费者的一致认可^[3]。

近年来, 微生物发酵剂对咖啡风味品质的影响研究已成为咖啡加工领域关注的热点。咖啡初加工最常用的方法是干法加工和湿法加工, 而半干法 (即蜜处理) 则是干法和湿法的折中性, 意指带着果胶进行日晒干燥的生豆制成过程。目前, 探讨微生物发酵剂对农产品风味形成及变化规律方面已有相关报道, 如陈媛媛等^[4]运用 HeraclesII 超快速气相电子鼻、电子舌和气相色谱-质谱仪等对 3 种发酵剂处理的风干肠中游离氨基酸及风味进行测定。结果表明利用 PRO-MIX5 复合发酵剂更有利于提高风干肠的风味, 进而达到改善滋味的效果; 随着风干时间的增加, 风干肠中的游离氨基酸含量也逐渐增加, 且 4 组样品在气味和滋味上都可以被明显区分, 结合 OAV 分析鉴定出其中的主要风味物质; 陈芝飞等^[5]通过香气活度值 (OAV) 从浓度和阈值两个维度揭示了香气成分对食品香气体系的贡献, 是表征关键香气成分的一种有效的技术手段。

咖啡豆在干燥过程中, 采用特定菌种作为发酵剂并接种在咖啡豆中, 随后在干燥过程中咖啡豆的风味成分与发酵剂中的微生物发生转化, 从而对咖啡风味进行针对性的修饰与改进。Silvia 等^[6]将不同酵母通过自然接种和桶式接种两种方式接种在生咖啡豆表面。

结果表明, 酿酒酵母在桶式接种中更有利于咖啡豆在加工过程中微生物持久性的维持; Luciana 等^[7]采用不同类型酿酒酵母接种于生咖啡豆中并与未接种咖啡豆进行比较; 结果显示菌株 CCMA 0543 在发酵过程中可以使生咖啡豆挥发性成分种类增加; Ana 等^[8]研究表明, 不同发酵剂接种在生咖啡豆中会影响其有机酸和挥发性物质的种类和含量; 赵林芬等^[9]采用酿酒酵母多物混合在低温厌氧条件下发酵咖啡鲜果, 结果表明发酵后咖啡中可溶性蛋白质含量显著提高, 且咖啡的水果香有所增加进而提升了咖啡的花香特质。上述研究多集中在酿酒酵母处理后所得生咖啡豆的风味前体物及气味成分表征, 而对烘焙豆样品特征香气物质组成和含量、感官评价 (美国精品咖啡协会) 及相关性分析等方面还未见报道。

本文以海南地区中粒种罗布斯塔咖啡为研究对象, 采用不同酿酒酵母对半干法加工咖啡进行处理, 结合气质联用、香气活度值和理化指标等进行综合评价, 利用系统聚类分析热图、Person 相关性分析等统计学方法对其进行分析, 系统揭示了酿酒酵母对半干法加工咖啡风味品质的影响, 旨在为咖啡初加工工艺改进和产品风味品质提升提供理论参考。

1 实验部分

1.1 材料与方法

1.1.1 材料

中粒种罗布斯塔咖啡鲜果于 2021 年 3 月采摘于中国热带农业科学院香料饮料研究所咖啡试验基地, 经水洗、脱皮、接种、干燥、脱壳得到生咖啡豆, 于干燥通风、低温、避光环境中贮存备用。

1.1.2 试剂与仪器

酿酒酵母 CMCC 1425、CMCC 1557、CMCC 1793、CMCC 32762, 中国工业微生物菌种保藏管理

中心; 甲醇、3-庚酮, 上海阿拉丁公司; 7890B-5977B 气相色谱-质谱联用仪, 美国安捷伦科技公司; WF32-16mm 精密色差仪, 深圳市威福光电科技有限公司; AL204 型电子分析天平, 梅特勒-托利多仪器有限公司; PRE 1 Z 型咖啡豆烘焙机, 德国 probat 公司; VTA-6S3 型咖啡豆研磨机, 德国 MAHLKONIG 公司; UVF 型全自动超纯水系统, 上海和泰仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验方法

1.2.1.1 接种剂的制备

参考 Ribeiro 等^[10]的方法, 稍作修改。将保藏的酿酒酵母菌株进行解冻, 划线培养于 YPD 固体培养基上, 28~30 °C 条件下培养 24~48 h 后重复活化一次。在 YPD 固体培养基上挑取菌落特征明显的酿酒酵母菌株接种于 1 LYPD 液体培养基(20 g/L 葡萄糖、10 g/L 酵母浸出粉、20 g/L 蛋白胨和 pH 值 3.50) 中, 在温度为 28~30 °C、转速为 180 r/min 条件下培养。然后, 将细胞离心(7 000 r/min, 10 min) 回收, 再悬浮于 500 mL 无菌水中用于接种。

1.2.1.2 咖啡豆半干法加工及烘焙

分别将酿酒酵母 CMCC 1793、CMCC 1425、CMCC 1557、CMCC 32762 及四种混合酿酒酵母菌株接种于脱皮后且附着果胶的湿咖啡豆表面, 再进行干燥至水分含量范围在 10%~12% 左右, 脱壳得到生咖啡豆, 未接种酿酒酵母所得生咖啡豆作为对照。分别称取上述生咖啡豆 500.00 g 置于滚筒式咖啡烘焙机中, 初始入锅温度 180 °C, 火力 1.50, 烘焙时间 8 min 左右, 得到中度烘焙豆。粉碎后过 40 目筛, 专用咖啡袋包装密封置于 4 °C 冰箱中保存。未接种及接种上述酿酒酵母所得样品编号依次为 CK、GK、HK、JK、ZK 和 MK。

1.2.2 理化指标检测

豆温: 读取烘焙机上显示的温度。

颜色测定: 参考张厅等^[11]的方法, 稍作修改。准确称量 1.50 g 样品于色差分析仪中检测, 光源为 D62 (6 500 K), 测定指标包括 L^* 、 a^* 、 b^* 、 h° 、 C 值、 ΔE 值, 用于比较不同样品间颜色的差异性。其中 L^* 、 a^* 、 b^* 为三个互相垂直的坐标轴, 可用来表示一个色彩空间。 L^* 轴表示明亮度, 黑在底端, 白在顶端; a^* 轴是红-绿色轴, $+a^*$ 表示红色, $-a^*$ 表示绿色, b^* 轴是黄-蓝色轴, $+b^*$ 表示黄色, $-b^*$ 表示蓝色, C^* 值指色度, h° 指色调角, ΔE 值则表示样品的整体色差值。

1.2.3 HS-SPME/GC-MS 分析

参照 Dong 等^[12]的方法并稍作修改。准确称量

1.00 g 咖啡粉于 15 mL 顶空瓶中, 加入 20 μ L 3-庚酮(浓度为 2.00 mg/mL) 为内标液并加盖密封。在 70 °C 下平衡 20 min, 顶空萃取吸附 30 min。

GC 条件: 色谱柱为 DB-WAX (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m), 进样口温度 250 °C; 升温程序: 40 °C 保持 2 min, 以 1.5 °C/min 升至 130 °C, 保持 2 min, 以 4 °C/min 升至 200 °C, 保持 5 min, 以 8 °C/min 升至 220 °C, 保持 2 min, 250 °C 的 GC-MS 进样口解吸 3 min; 载气为氦气; 流量 1.00 mL/min, 采用不分流方式进样。

MS 条件: 电子轰击(EI) 离子源; 离子源温度 230 °C; 电子能量 70 eV; 四极杆温度 150 °C; 扫描范围 30~350 m/z 。

1.2.4 香气活度值分析

OAV 为香气物质含量与风味阈值的比值, 用于评价香气物质对样品风味呈香的贡献程度。OAV 值大于或等于 1 的香气化合物被认为具有重要贡献, OAV 值越大则表明其贡献越大。采用下列公式计算:

$$OAV = \frac{C_i}{T_i} \quad (1)$$

式中:

C_i —化合物的含量, μ g/g;

T_i —该化合物的香气阈值, μ g/g。

1.2.5 感官评价

参照美国精品咖啡协会(SCA) 杯测体系, 准确称取 8.50 g 现磨咖啡粉于杯测碗中, 注入 150 mL 93 °C 的热水^[13]。感官评价试验由 6 名训练有素成员(3 名女性和 3 名男性) 组成评价小组, 对咖啡的香气、风味、酸度、醇度、回味、均衡感、一致性、纯净度、甜度和整体性 10 个指标进行评分, 其中一致性、纯净度及甜度指标给予满分。所有 10 个感官指标分数之和为单个样本的最终分数^[14]。

1.2.6 数据处理分析

挥发性成分定性分析是通过 NIST14 谱库检索比对, GC-MS 采用工作站自带数据处理软件进行处理, 实验数据经过 Microsoft Excel 2019 进行整理; 利用 SPSS 23.0 (IBM Corporation, New York, NY) 选用 Duncan 进行显著性方差分析; 采用 Origin 2021 (Northampton, MA, USA) 进行相应绘图, Pearson 相关性分析各指标间关联性。

2 结果与分析

2.1 咖啡豆烘焙过程中温度变化规律分析

咖啡豆烘焙过程中温度变化曲线如图 1 所示, 豆

温呈现出先降低后上升的趋势。当烘焙时间在0~1 min时,豆温急剧下降。因为咖啡生豆入锅时,生豆表面温度低于滚筒腔内温度。随着烘焙时间的增加,在1 min左右温度降到最低为109℃该阶段属于干燥阶段,此时下降平均速率达到71℃/min;在2~6 min时,

豆温呈现上升趋势,咖啡豆需要放热且释放部分热量,这是因为咖啡豆受热发生美拉德反应^[15],则咖啡原有的青草涩味已消失,烤香味溢出;在7~8 min时,咖啡豆发生化学反应,使得其能量也达到峰值,升温速率降低,直到烘焙结束。

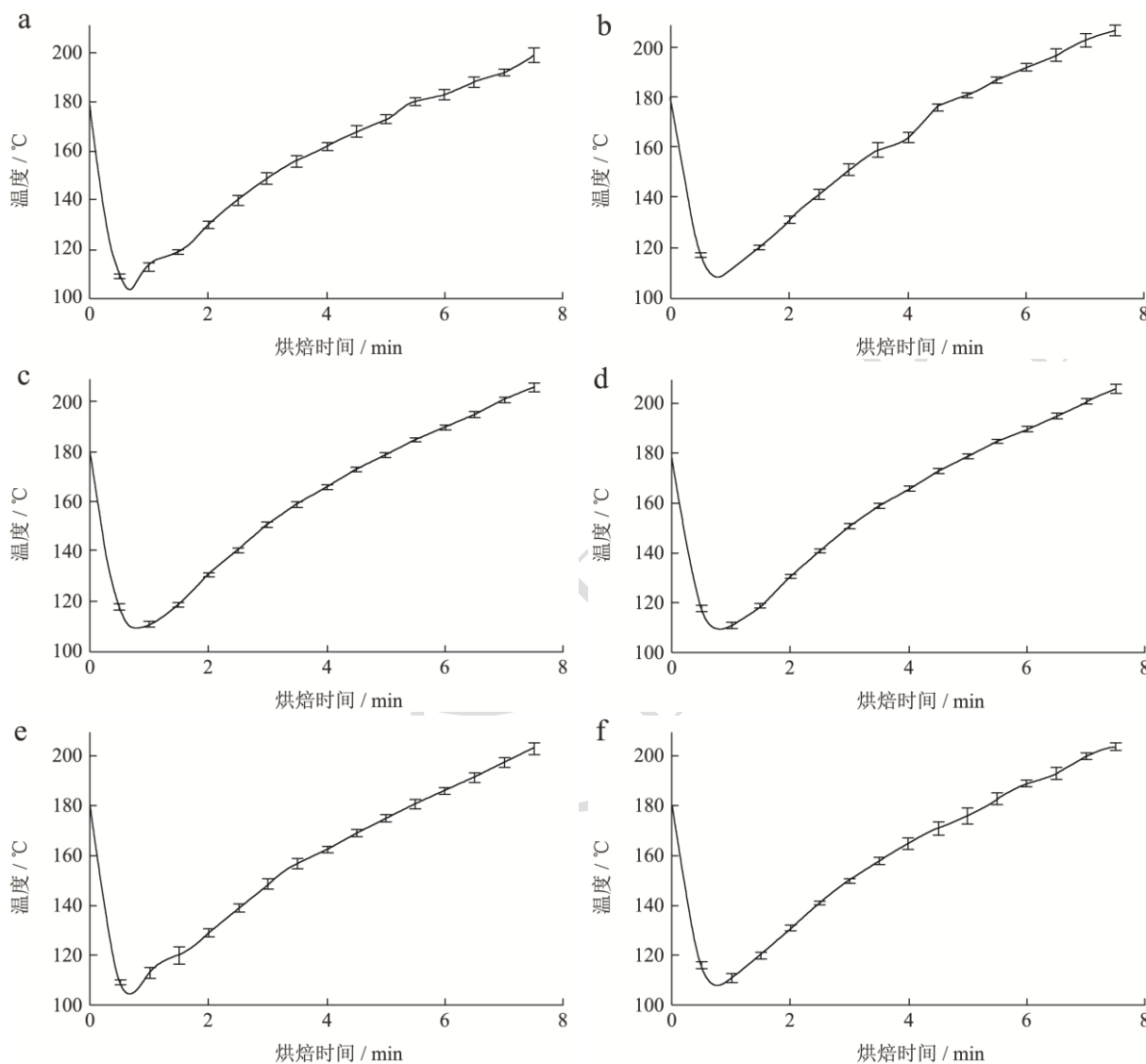


图1 不同处理咖啡豆烘焙过程中温度变化曲线图

Fig.1 Temperature changes of coffee beans with different treatment during roasting process

注: a为CK; b为GK; c为HK; d为JK; e为ZK; f为MK。

2.2 色泽分析

如图2和表1所示,不同酿酒酵母处理的烘焙豆外观和色泽指数存在差异, L^* 值代表明亮度,即 L^* 值越高,表明样品颜色越浅。HK的 L^* 值最高达到31.22,即颜色最浅。GK的 L^* 值为27.87,褪色程度最低,说明该酿酒酵母有利于咖啡豆色素的稳定; a^* 值代表红绿色调,最大值和最小值分别为JK(4.49)和ZK(2.62)。菌种类型的改变使得 a^* 值呈现上升趋势; b^*

值代表黄-蓝色调(黄色 b^+ ,蓝色 b^-),酚类物质是产生样品黄色色调的主要来源,5种酿酒酵母处理所得的烘焙豆 b^* 值均低于CK,这是由于微生物发酵剂作用使得酚类物质不断发生氧化造成损失,进而导致 b^* 值降低; ΔE 用于确定两种颜色之间的差异,通常 ΔE 为3.00是人眼检测到的最小色差(取决于色调)^[16]。其中 ΔE^* 的最大值和最小值分别为JK(1.81)和HK(0.14),均在3.00以内,表明人眼无法区分两种咖啡豆颜色间的差异。



图2 不同处理咖啡豆样品图

Fig.2 Coffee bean samples with different treatments

表1 不同处理烘焙豆颜色参数分析表

Table 1 Analysis of color parameters of roasted beans with different treatment

组别	L^*	a^*	b^*	C^*	ho	ΔE^*
CK	29.53±0.96 ^a	2.36±0.23 ^a	2.08±0.03 ^c	2.09±0.03 ^c	244.07±1.08 ^a	0.38±0.36 ^a
GK	27.87±0.02 ^c	3.77±0.06 ^b	1.36±0.04 ^a	3.66±0.09 ^a	237.68±0.34 ^d	1.56±0.03 ^{bc}
HK	31.22±0.14 ^a	3.66±0.27 ^b	1.98±0.01 ^c	2.14±0.01 ^c	246.90±1.11 ^b	0.14±0.16 ^a
JK	28.09±0.28 ^c	4.49±0.31 ^c	1.37±0.14 ^a	1.53±0.14 ^d	243.49±1.97 ^c	1.81±0.36 ^c
ZK	27.95±0.02 ^c	2.62±0.12 ^a	1.64±0.11 ^b	2.81±0.13 ^b	246.66±1.40 ^b	1.04±0.12 ^b
MK	28.46±0.57 ^c	4.62±0.04 ^c	1.60±0.03 ^b	1.68±0.06 ^d	249.16±1.45 ^b	1.81±0.29 ^c

注：同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。

2.3 不同酿酒酵母处理所得烘焙豆挥发性成

分析

2.3.1 挥发性组分定性定量分析

HS-SPME/GC-MS 可用于食品进行鉴别，通过 HS-SPME/GC-MS 对六种不同处理的烘焙豆中挥发性物质进行鉴别分析，与 NIST14 标准谱库比对，结合相关文献报道^[17]共鉴定出 81 种挥发性物质，不同处理方式下咖啡豆 GC-MS 离子流色谱图见图 3 所示。

由表 2 可知，不同酿酒酵母对烘焙咖啡豆成分种类和含量均有影响。其中，CK 49 种、GK 52 种、HK 50 种、JK 52 种、MK 58 种、ZK 46 种。含量分别为 JK(333.05 $\mu\text{g/g}$)>ZK(372.51 $\mu\text{g/g}$)>CK(301.03 $\mu\text{g/g}$)>GK (286.31 $\mu\text{g/g}$)>MK (262.22 $\mu\text{g/g}$)>HK (223.15 $\mu\text{g/g}$)。吡嗪类化合物含量具有明显差异，依次为 JK>ZK>CK>GK>MK>HK。吡嗪类化合物中，JK 总含量最高可达到 122.99 $\mu\text{g/g}$ ，主要因为氨基酸与糖发生的美拉德反应和氨基酸直接热解^[13]所产生。其中 JK、MK、ZK 中的 2,5-二甲基吡嗪 (14.34~17.84 $\mu\text{g/g}$)、2,6-二甲基吡嗪 (18.45~24.64 $\mu\text{g/g}$)、2-乙基吡嗪等物质 (9.74~12.03 $\mu\text{g/g}$) 含量均有所增加，从而提升了咖啡的坚果香与烘烤香的香气，这与

Sunarharum 等^[18]的研究相似。

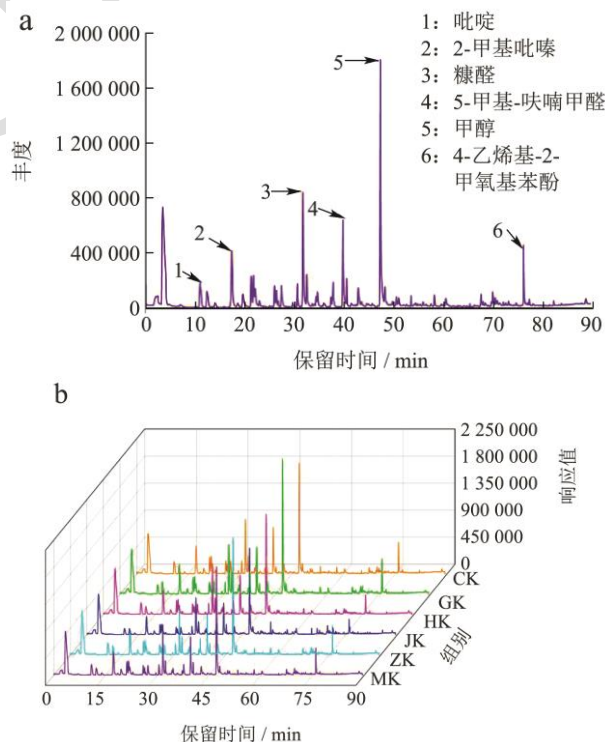


图3 不同处理烘焙豆 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.3 GC-MS total ion chromatograms of roasted coffee beans with different treatment

注：a：部分物质；b：样品检测。

表2 不同处理烘焙咖啡豆挥发性成分定性定量分析表

Table 2 Qualitative and quantitative analysis of volatile compounds of roasted coffee beans with different treatment

序号	保留时间/min	物质名称	化学式	CAS 编号	含量/($\mu\text{g/g}$)					
					CK	GK	HK	JK	ZK	MK
吡嗪类化合物										
1	13.75	2-甲基吡嗪	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$	98-97-5	ND	ND	ND	2.34 ± 0.37	ND	ND
2	13.78	吡嗪	$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2$	290-37-9	ND	ND	3.23 ± 1.01	ND	ND	ND
3	17.11	2-甲基吡嗪	$\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2$	109-08-0	21.96 ± 0.47^b	19.12 ± 0.39^c	23.05 ± 0.77^a	16.43 ± 1.19^c	17.79 ± 0.14^c	18.91 ± 0.24^c
4	21.48	2,5-二甲基吡嗪	$\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$	123-32-0	9.63 ± 1.81^c	8.03 ± 0.84^{cd}	1.47 ± 0.32^e	14.32 ± 2.68^b	17.84 ± 0.16^a	6.19 ± 0.13^d
5	21.52	2,6-二甲基吡嗪	$\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$	108-50-9	15.63 ± 0.83^c	18.45 ± 2.62^b	8.30 ± 0.30^d	22.27 ± 2.18^a	ND	24.64 ± 1.87^a
6	22.04	2-乙基吡嗪	$\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$	13925-00-3	6.84 ± 1.27^b	5.65 ± 0.50^b	1.14 ± 0.24^c	9.74 ± 2.03^a	12.03 ± 0.56^a	4.47 ± 0.05^b
7	22.88	2,3-二甲基吡嗪	$\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$	5910-89-4	1.87 ± 0.36^b	1.64 ± 0.18^b	0.31 ± 0.06^c	2.85 ± 0.50^a	3.35 ± 0.07^a	1.24 ± 0.01^b
8	26.30	2-乙基-5-甲基吡嗪	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_4$	13360-64-0	5.29 ± 1.07^b	4.19 ± 0.26^{bc}	0.73 ± 0.21^d	7.86 ± 1.65^a	9.06 ± 0.14^a	3.25 ± 0.09^c
9	26.31	2-乙基-6-甲基-吡嗪	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2$	13925-03-6	6.44 ± 1.31^b	5.37 ± 0.37^{bc}	0.93 ± 0.24^d	9.36 ± 1.87^a	10.92 ± 0.17^a	4.12 ± 0.12^c
10	27.31	2,3,5-三甲基吡嗪	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2$	14667-55-1	ND	6.22 ± 0.41^a	1.20 ± 0.24^c	ND	ND	4.78 ± 0.05^b
11	29.60	2,6-二乙基吡嗪	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2$	13067-27-1	1.84 ± 0.25^{ab}	1.23 ± 0.05^b	ND	2.02 ± 0.39^{ab}	2.55 ± 0.01^a	ND
12	30.47	3-乙基-2,5-二甲基-吡嗪	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2$	13360-65-1	6.35 ± 1.18^b	5.20 ± 0.35^{bc}	0.97 ± 0.22^d	9.63 ± 1.74^a	11.32 ± 0.15^a	4.07 ± 0.15^c
13	33.51	2-甲基-6-乙基吡嗪	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2$	13925-09-2	1.37 ± 0.24^{ab}	0.92 ± 0.05^b	ND	1.61 ± 0.42^{ab}	2.13 ± 0.18^a	1.24 ± 0.63^{ab}
14	34.29	3,5-二乙基-2-甲基吡嗪	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2$	18138-05-1	2.78 ± 0.48^b	2.29 ± 0.10^{bc}	0.50 ± 0.06^d	4.60 ± 0.11^a	5.00 ± 0.02^a	1.83 ± 0.01^c
15	41.58	2-(1-甲基乙基)-吡嗪	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2$	38713-41-6	1.00 ± 0.74^{bc}	1.55 ± 0.15^{bc}	0.44 ± 0.31^d	1.95 ± 0.47^b	2.91 ± 0.18^a	0.96 ± 0.10^{cd}
16	43.56	2-乙酰基吡嗪	$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$	22047-25-2	1.39 ± 0.19^c	1.55 ± 0.31^{bc}	0.29 ± 0.08^d	2.32 ± 0.46^b	3.41 ± 0.64^a	0.98 ± 0.05^{cd}
17	48.25	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$	23787-80-6	6.99 ± 0.46^c	6.23 ± 0.36^{cd}	1.37 ± 0.07^e	12.14 ± 0.54^b	14.06 ± 1.40^a	4.70 ± 0.05^d
18	49.65	2-甲基-5-吡嗪	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2$	18217-82-8	ND	ND	ND	3.55 ± 0.12	ND	0.95 ± 0.03
19	49.65	2-甲基-5-(E)-1-丙烯基吡嗪	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$	18217-82-8	ND	ND	ND	ND	ND	0.95 ± 0.03
20	70.32	2-异丙基-3-甲氧基吡嗪	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$	25773-40-4	ND	ND	0.34 ± 0.08	ND	ND	ND
咪唑类化合物										
21	34.35	2-乙酰基咪唑	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	1192-62-7	8.94 ± 0.08^a	ND	9.59 ± 0.64^a	5.87 ± 0.36^c	6.84 ± 0.13^c	6.59 ± 0.18^c
22	59.32	3-苯基咪唑	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}$	13679-41-9	1.75 ± 0.30^a	ND	ND	ND	ND	0.54 ± 0.11^a
23	60.38	5-甲基-2-乙酰基咪唑	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$	1193-79-9	4.85 ± 1.05^b	3.91 ± 0.34^{ab}	0.75 ± 0.12^c	3.50 ± 0.98^{ab}	6.31 ± 1.50^a	ND
24	69.89	2-乙基咪唑	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$	1487-18-9	ND	0.57 ± 0.12	ND	ND	ND	ND
酯类化合物										
25	6.89	甲酸甲酯	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	107-31-3	2.86 ± 1.74^a	ND	3.56 ± 1.46^a	ND	ND	5.64 ± 0.90^a
26	31.82	乙二醇二乙酸酯	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$	111-55-7	ND	13.91 ± 0.18	15.71 ± 0.99	ND	ND	ND
27	37.70	2-咪唑基甲醇乙酸酯	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3$	623-17-6	9.69 ± 1.30^b	10.03 ± 0.67^b	1.43 ± 0.41^d	15.02 ± 2.29^a	14.46 ± 0.08^a	7.00 ± 0.20^c

续表 2

序号	保留时间/min	物质名称	化学式	CAS 编号	含量/($\mu\text{g/g}$)					
					CK	GK	HK	JK	ZK	MK
28	42.16	γ -丁内酯	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$	96-48-0	3.77 \pm 0.21 ^{ab}	4.61 \pm 0.25 ^a	4.42 \pm 0.12 ^a	3.97 \pm 0.22 ^{ab}	3.27 \pm 0.10 ^b	4.01 \pm 0.73 ^{ab}
29	42.20	4-羟基丁酸乙酰酯	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_3$	591-81-1	3.34 \pm 0.41	ND	ND	3.04 \pm 0.60	ND	ND
30	69.65	乙酸苯酯	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$	122-79-2	ND	ND	ND	ND	1.62 \pm 0.02	ND
31	72.44	2,4-二异酸甲苯酯	$\text{C}_9\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$	584-84-9	1.14 \pm 0.16	ND	ND	ND	ND	ND
32	77.13	棕榈酸甲酯	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$	112-39-0	ND	ND	ND	ND	ND	2.12 \pm 0.48
醛类化合物										
33	31.13	糠醛	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$	98-01-1	31.12 \pm 1.25 ^a	19.11 \pm 0.71 ^c	30.28 \pm 1.17 ^a	16.16 \pm 2.49 ^c	23.34 \pm 0.33 ^b	22.09 \pm 0.74 ^b
34	38.89	5-甲基-2-呋喃甲醛	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	620-02-0	25.01 \pm 0.14 ^{ab}	21.92 \pm 0.30 ^{cd}	27.76 \pm 0.70 ^a	18.94 \pm 1.90 ^d	20.91 \pm 0.16 ^d	23.60 \pm 1.53 ^{bc}
35	44.34	N-甲基-2-吡咯甲醛	$\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}$	1192-58-1	3.84 \pm 0.09 ^a	4.07 \pm 0.60 ^a	4.15 \pm 0.13 ^a	3.62 \pm 1.06 ^a	3.20 \pm 0.09 ^a	4.21 \pm 0.41 ^a
36	44.71	对甲基苯甲醛	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$	104-87-0	1.66 \pm 0.32 ^b	1.12 \pm 0.34 ^b	ND	1.38 \pm 0.47 ^b	ND	2.35 \pm 0.35 ^a
37	68.38	2-苯基巴豆醛	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}$	4411-89-6	ND	ND	ND	7.51 \pm 1.83	ND	ND
38	69.20	2-吡咯甲醛	$\text{C}_5\text{H}_5\text{NO}$	1003-29-8	2.53 \pm 0.03 ^c	3.51 \pm 0.07 ^b	2.81 \pm 0.03 ^{bc}	2.59 \pm 0.59 ^b	3.08 \pm 0.11 ^{bc}	3.96 \pm 0.14 ^a
酚类化合物										
39	50.84	4-甲氧基苯硫酚	$\text{C}_7\text{H}_8\text{OS}$	696-63-9	5.39 \pm 0.18 ^a	1.94 \pm 0.32 ^b	1.07 \pm 0.05 ^b	3.07 \pm 1.99 ^b	5.73 \pm 0.14 ^a	2.75 \pm 0.54 ^b
40	50.92	5-甲氧基间苯二酚	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3$	2174-64-3	ND	1.78 \pm 0.11 ^b	0.72 \pm 0.23 ^b	ND	4.02 \pm 0.36 ^a	ND
41	69.68	苯酚	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$	108-95-2	ND	0.55 \pm 0.05 ^b	0.69 \pm 0.05 ^b	1.59 \pm 0.19 ^a	1.63 \pm 0.13 ^a	0.56 \pm 0.18 ^b
42	71.67	4-乙基-2-甲氧基苯酚	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2$	2785-89-9	2.32 \pm 0.36 ^b	2.55 \pm 0.28 ^b	ND	0.41 \pm 0.03 ^d	1.42 \pm 0.04 ^c	3.80 \pm 0.40 ^a
43	77.41	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$	7786-61-0	1.25 \pm 0.01 ^{bc}	1.40 \pm 0.04 ^b	1.81 \pm 0.15 ^a	1.47 \pm 0.28 ^a	0.76 \pm 0.04 ^d	0.98 \pm 0.09 ^{cd}
醇类化合物										
44	35.74	3-甲基-1-戊烯-4-炔-3-醇	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}$	3230-69-1	1.61 \pm 0.04	ND	ND	ND	ND	ND
45	55.02	糠醇	$\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_2$	98-00-0	9.76 \pm 0.12 ^d	14.25 \pm 0.70 ^b	9.69 \pm 0.06 ^d	11.91 \pm 0.35 ^c	17.61 \pm 0.77 ^a	18.98 \pm 0.31 ^a
46	67.88	1,8-萘啉-4-醇	$\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$	54569-29-8	ND	ND	0.20 \pm 0.01 ^c	ND	2.35 \pm 0.21 ^a	0.80 \pm 0.08 ^b
酮类化合物										
47	18.53	3-羟基-2-丁酮	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	513-86-0	ND	1.45 \pm 0.15 ^c	ND	2.12 \pm 0.29 ^b	2.73 \pm 0.27 ^a	0.94 \pm 0.02 ^d
48	19.54	羟基丙酮	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$	116-09-6	5.05 \pm 0.29 ^c	4.10 \pm 0.12 ^d	0.85 \pm 0.02 ^c	6.62 \pm 0.56 ^b	11.77 \pm 0.72 ^a	3.18 \pm 0.05 ^d
49	31.82	乙酰氧基-2-丙酮	$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3$	592-20-1	33.65 \pm 1.45 ^b	23.84 \pm 2.19 ^c	6.86 \pm 0.47 ^d	38.89 \pm 6.97 ^b	50.96 \pm 1.13 ^a	20.17 \pm 0.20 ^c
50	35.10	2-甲基-4-己炔-3-酮	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}$	52066-33-8	ND	0.74 \pm 0.18	ND	ND	ND	0.83 \pm 0.05
51	36.84	2-甲基-3-戊酮	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	565-69-5	1.73 \pm 0.07 ^a	1.79 \pm 0.21 ^{ab}	1.98 \pm 0.07 ^a	ND	1.54 \pm 0.008 ^b	ND
52	36.87	3,3-二甲基-2-丁酮	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	75-97-8	ND	ND	2.16 \pm 0.08 ^a	1.53 \pm 0.27 ^b	ND	1.82 \pm 0.04 ^{ab}
53	37.26	3-己酮	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	589-38-8	2.51 \pm 0.39 ^b	2.32 \pm 0.15 ^b	0.57 \pm 0.18 ^d	3.86 \pm 0.10 ^a	4.27 \pm 0.05 ^a	1.69 \pm 0.02 ^c
54	49.94	1-(吡啉-1(4H)-基)乙酮	$\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}$	67402-83-9	ND	1.73 \pm 0.17	ND	ND	ND	ND

续表 2

序号	保留时间/min	物质名称	化学式	CAS 编号	含量/($\mu\text{g/g}$)					
					CK	GK	HK	JK	ZK	MK
55	70.77	4-氨基喹啉-2-酮	C ₉ H ₈ N ₂ O	110216-87-0	ND	0.58 \pm 0.12	ND	ND	ND	0.87 \pm 0.06
56	74.50	3-1H-吡啶-2, 3-二酮	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O	17310-26-8	ND	ND	ND	ND	ND	0.17 \pm 0.03
吡咯类化合物										
57	45.57	2-乙酰基-1-甲基吡咯	C ₇ H ₉ NO	932-16-1	0.63 \pm 0.05 ^{bc}	0.70 \pm 0.11 ^b	ND	0.96 \pm 0.11 ^a	ND	0.44 \pm 0.02 ^c
58	53.13	3-甲基吡咯	C ₅ H ₇ N	616-43-3	0.99 \pm 0.06				5.31 \pm 0.06	
59	57.68	1-糠基吡咯	C ₉ H ₉ NO	1438-94-4	8.97 \pm 0.13 ^a	4.87 \pm 0.34 ^c	9.34 \pm 0.70 ^a	5.63 \pm 0.53 ^b	5.34 \pm 0.14 ^{bc}	6.82 \pm 0.67 ^b
60	66.76	2-乙酰基吡咯	C ₆ H ₇ NO	1072-83-9	7.18 \pm 0.20 ^c	7.14 \pm 0.36 ^c	1.56 \pm 0.02 ^d	10.97 \pm 1.39 ^b	12.40 \pm 0.35 ^a	5.82 \pm 0.42 ^c
酸类化合物										
61	51.37	苯甲酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₄ Si ₃	3618-20-0	ND	ND	0.25 \pm 0.07 ^b	3.46 \pm 0.23 ^b	3.83 \pm 1.65 ^a	0.85 \pm 0.17 ^a
吡啶类化合物										
62	12.75	吡啶	C ₅ H ₅ N	110-86-1	3.31 \pm 0.15 ^e	6.42 \pm 0.07 ^a	4.40 \pm 0.08 ^c	5.30 \pm 0.14 ^b	3.44 \pm 0.07 ^d	5.07 \pm 0.09 ^b
63	27.25	2,6-二甲基-4-氨基吡啶	C ₇ H ₁₀ N ₂	3512-80-9	ND	ND	4.59 \pm 0.46 ^b	15.67 \pm 8.04 ^a	13.27 \pm 0.13 ^{ab}	10.06 \pm 0.76 ^{ab}
64	50.12	1-乙酰-1,4-二氢吡啶	C ₇ H ₉ NO	67402-83-9	ND	ND	0.36 \pm 0.12	ND	ND	1.73 \pm 0.01
其它类化合物										
65	21.74	4,6-二甲基嘧啶	C ₆ H ₈ N ₂	1558-17-4	16.71 \pm 1.97 ^b	ND	25.39 \pm 2.16 ^a	ND	24.27 \pm 1.01 ^a	ND
66	21.77	4,5-二甲基-嘧啶	C ₆ H ₈ N ₂	694-81-5	ND	23.89 \pm 0.46	ND	ND	ND	ND
67	26.66	十二甲基环六硅氧烷	C ₁₂ H ₃₀ O ₆ Si ₆	540-97-6	1.02 \pm 0.14 ^{bc}	0.90 \pm 0.20 ^{bcd}	0.21 \pm 0.04 ^d	2.25 \pm 0.68 ^a	1.54 \pm 0.11 ^b	0.49 \pm 0.10 ^{cd}
68	34.59	2,5-二甲基-2,4-己二烯	C ₈ H ₁₄	764-13-6	ND	5.99 \pm 0.78	ND	3.77 \pm 0.37	ND	3.92 \pm 2.20
69	35.09	3-乙基环戊烯	C ₇ H ₁₂	694-35-9	1.15 \pm 0.01	ND	ND	ND	ND	ND
70	35.11	2-甲基-1,4-戊二烯	C ₆ H ₁₀	763-30-4	ND	0.04 \pm 0.91	ND	ND	ND	ND
71	50.45	吡嗪甲酰胺	C ₅ H ₅ N ₃ O	98-96-4	2.71 \pm 0.71 ^b	2.15 \pm 0.07 ^c	ND	3.82 \pm 0.06 ^a	ND	1.93 \pm 0.17 ^c
72	54.28	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-环己烯	C ₁₀ H ₁₈	500-00-5	1.43 \pm 0.17	ND	ND	ND	ND	ND
73	62.76	1,1,1,5,7,7,7-七甲基-3,3-二四氧烷	C ₁₃ H ₄₀ O ₅ Si ₆	38147-00-1	ND	ND	0.72 \pm 0.03 ^{ab}	0.70 \pm 0.11 ^a	0.55 \pm 0.02 ^b	0.93 \pm 0.10 ^a
74	67.92	2,2-二糠基醚	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	4437-22-3	0.43 \pm 0.08 ^{de}	0.80 \pm 0.11 ^b	0.57 \pm 0.01 ^{cd}	0.49 \pm 0.16 ^{bc}	0.35 \pm 0.01 ^e	1.33 \pm 0.06 ^a
75	70.58	3-[1,2,4]噁唑-4-苯胺	C ₈ H ₈ N ₄	252928-92-0	ND	ND	ND	0.59 \pm 0.43	ND	ND
76	71.67	2,5-二甲氧基甲苯	C ₉ H ₁₂ O ₂	24599-58-4	ND	ND	ND	ND	ND	0.71 \pm 0.05
77	76.84	1,4-二甲基-双环戊烷	C ₇ H ₁₂	17065-18-8	ND	0.65 \pm 0.02 ^b	0.60 \pm 0.11 ^b	ND	ND	1.24 \pm 0.27 ^a
78	76.84	2,6-二甲基-1,3,7-辛三烯	C ₁₀ H ₁₆	6876-07-9	ND	ND	ND	0.80 \pm 0.13	ND	0.97 \pm 0.07
79	81.65	吡啶	C ₈ H ₇ N	120-72-9	0.43 \pm 0.04 ^a	0.17 \pm 0.02 ^b	0.29 \pm 0.04 ^a	0.16 \pm 0.02 ^b	0.18 \pm 0.01 ^b	0.34 \pm 0.06 ^a
80	86.59	2-苯基-1,4,7,10,13-五氧基氯戊烷	C ₁₆ H ₂₄ O ₅	68756-67-2	0.18 \pm 0.02 ^{bc}	0.21 \pm 0.05 ^c	0.26 \pm 0.03 ^a	0.24 \pm 0.03 ^{ab}	0.13 \pm 0.02 ^c	0.30 \pm 0.00 ^a
81	86.78	咖啡因	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	58-08-2	2.74 \pm 0.24 ^{ab}	2.96 \pm 0.41 ^{bc}	3.28 \pm 0.13 ^a	2.18 \pm 0.18 ^{bc}	1.71 \pm 0.49 ^{bc}	1.98 \pm 0.27 ^c

注: ND 表示未检测到该物质, 同列左肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

除吡嗪类化合物可以提供坚果香与烘烤香, 呋喃类化合物可以提供焦糖味或水果味, 这是通过碳水化合物的美拉德反应、脂质的热氧化和硫胺素的降解形成。其中, 呋喃类化合物中的糠醇含量在 MK 中高于其它样品, 达到 (18.98 $\mu\text{g/g}$)。

酮类化合物提供焦糖味或水果味, 含量较高的为 ZK (71.27 $\mu\text{g/g}$) 和 JK (53.02 $\mu\text{g/g}$); 醛类化合物主要呈奶油味, 共检测到 6 种醛类物质, 分别为糠醛、5-甲基-2-呋喃甲醛、N-甲基-2-吡咯甲醛、对甲基苯甲醛、2-苯基巴豆醛及 2-吡咯甲醛。其它化合物的物质含量虽少, 但增加了酯香^[19]、果香和烟熏香等进一步丰富了咖啡的主体香气。醇类化合物仅有 3 种, 分别为 3-甲基-1-戊烯-4-炔-3-醇、糠醇、1,8-萘啶-4-醇, 这可能是在干燥过程中由于酵母菌的影响使得咖啡中的脂质发生氧化造成了醇类物质的氧化分离^[20]。同时随着碳链的增加, 咖啡豆也会不断的产生清香、木香和脂肪香等特征^[21,22]。

2.3.2 挥发性成分种类分析

不同酿酒酵母处理的烘焙成分含量和物质类别也有差异。如图 4a、4b 和表 2 所示, 六种不同酿酒酵母处理所得烘焙豆中挥发性组分主要包括吡嗪类 (20 种)、酮类 (10 种)、酯类 (8 种)、醛类 (6 种)、吡啶和吡咯类 (6 种)、酚类 (5 种)、呋喃类 (4 种)、醇类 (3 种)、酸类 (1 种)。主要集中在吡嗪类、酮类、醛类、醇类等化合物中。在吡嗪类化合物中, 其总含量依次为: JK>ZK>CK>GK>MK>HK。并且在 JK 中达到最高 (122.99 $\mu\text{g/g}$)。但也有一些成分仅在单一样品中检测到, 如 2-甲基-5-[(E)-1-丙烯基]吡嗪仅在 MK 中检测到, 2-甲基-5-吡嗪仅在 JK、MK、ZK 中检测到; 2-甲基吡嗪、2-苯基巴豆醛仅在 JK 中检测到。除此之外, 吡啶类化合物种类依次为: HK=ZK>MK=JK>CK=GK, 含量均要高于 CK, 由于吡啶类化合物是葫芦巴碱的分解物, 可能是酿酒酵母菌改变了葫芦巴碱分解代谢的途径, 这与 Nadia 等^[23]对葫芦巴碱降解途径阐述的结果相似。

在酯类化合物中, 共检测到 8 种酯类, 都具有水果香气, 多数中性酯如乙酸乙酯、乳酸乙酯均是由酵母菌和细菌结合产生的生化酯, 少数的酸性酯是在发酵过程经过一定时间的酯化作用产生的。其中, 含量最高的是乙二醇二乙酸酯, 仅在 GK、HK 中有所体现, 且在 HK 中含量最高为 15.71 $\mu\text{g/g}$ 。并且, 甲酸甲酯、乙酸苯酯、棕榈酸甲酯都仅在一种处理的样品中检测到, 表明酵母可以吸收某些种类的酯, 这在 Gallardo-Chacón 等^[24]利用酵母菌株对泡酒芳香特征

的影响研究中得到了验证。

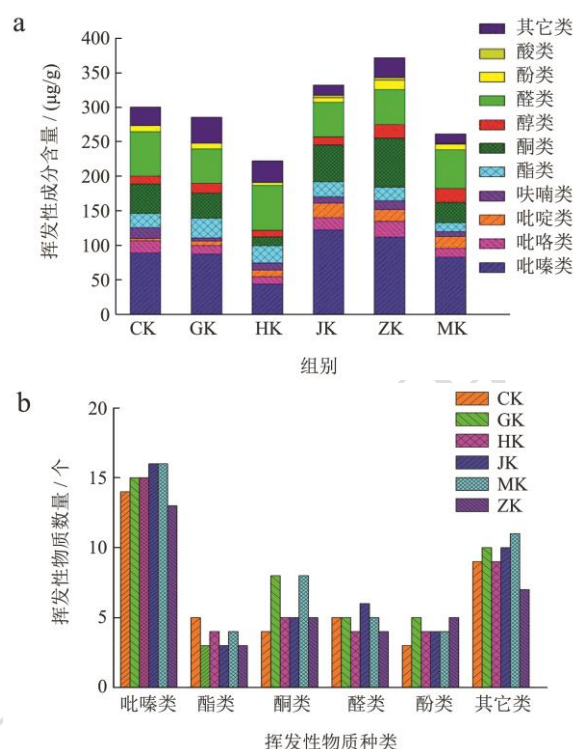


图4 不同处理挥发性成分种类和含量图

Fig.4 Type and content diagram of volatile compounds with different treatment

2.3.3 香气活度值 (OAV) 分析

香气阈值是呈香物质的重要特性, 挥发性化合物对整体风味的贡献度与其 OAV 值呈正比^[25], 不同物质的香气阈值具有差异性, 即相同物质在不同基质中其香气阈值有所差异。因此, 本研究用 OAV 值来对不同酿酒酵母处理的烘焙豆中关键香气成分进行表征, OAV ≥ 1 的物质被认为对样品的香气具有重要贡献, OAV 值越大表明贡献性越大。由表 3 可知, 不同酿酒酵母处理的烘焙豆中的关键香气成分数量有所不同, 依次为 CK (12 种) >HK (11 种) =MK (11 种) >GK (10 种) =JK (10 种) >ZK (9 种)。其中, 六种样品中含有 10 种共有关键性物质, 包括吡嗪类 5 种、醛类 2 种、醇类 1 种、呋喃类 1 种、2-乙酰基吡咯及吡啶。

其中 3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、5-甲基-2-呋喃甲醛、2-乙酰基吡咯和 2,6-二甲基吡嗪等物质阈值较低, 但 OAV 值较大, 尤其是 3-乙基-2,5-二甲基吡嗪在 ZK 中 OAV 均显著高于其它样品, 香气活度值为 121,898.73, 2-乙基吡嗪的香气活度值在 JK 中达到 38.67, 对咖啡豆风味品质也起到贡献作用^[27]。另外, OAV 值大于 1 的还有 2,5-二甲基吡嗪、2-乙基吡嗪、2-乙酰基呋喃、糠醇、糠醛、吡啶及吡咯。

表 3 不同处理所得烘焙咖啡豆关键香气物质分析

Table 3 Analysis of key aroma compounds in roasted coffee beans with different treatment

序号	物质名称	阈值 ^[26] (ng/g)	香气描述	OAV					
				CK	GK	HK	JK	ZK	MK
1	吡嗪	75 000	烤焦味	/	/	0.04	/	/	/
2	2-甲基吡嗪	27 000	烘烤和焦糊味	0.81	/	0.85	0.61	0.66	0.70
3	2,5-二甲基吡嗪	800	坚果味	12.04	10.04	1.84	17.90	22.30	7.74
4	2,6-二甲基吡嗪	157.60	坚果、咖啡、霉味、青椒香	99.18	117.07	52.66	141.31	/	156.35
5	2-乙基吡嗪	5 550.50	坚果香、霉味、可可	1.23	1.02	0.21	1.75	2.17	0.81
6	2-乙基-6-甲基-吡嗪	none	泥土风味	/	/	/	/	/	/
7	3-乙基-2,5-二甲基-吡嗪	0.08	炒花生香气、巧克力	80 379.70	65 822.78	12 278.48	121 898.73	143 291.14	51 518.99
8	2-乙酰基吡嗪	60	烤香味	23.17	25.83	4.83	38.67	56.83	16.33
9	2-乙酰基呋喃	8 000	甜香、坚果香	1.12	/	1.20	0.73	0.86	0.82
10	γ -丁内酯	100 000	奶香, 焦甜香	0.04	0.05	0.04	0.04	0.03	0.04
11	棕榈酸甲酯	none	熟红枣香	/	/	/	/	/	/
12	糠醛	282	烘烤、花生香气	110.35	67.77	107.38	57.30	82.77	78.33
13	5-甲基-2-呋喃甲醛	6	/	4 168.33	3 653.33	4 626.67	3 156.67	3 485.00	3 933.33
14	2-苯基巴豆醛	none	花香、蜜甜香气	/	/	/	/	/	/
15	苯酚	5 900	橡胶; 塑料味	/	0.09	0.12	0.27	0.28	0.09
16	4-乙基-2-甲氧基苯酚	none	花香; 树脂味	/	/	/	/	/	/
17	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	none	苦味	/	/	/	/	/	/
18	糠醇	2 000	甜的; 焦糖味	4.88	7.13	4.85	5.96	8.81	9.49
20	2-乙酰基吡咯	58.59	坚果香、面包香	122.55	121.86	26.63	187.23	211.64	99.33
21	吡啶	2 000	特殊的臭味	1.66	3.21	2.20	2.65	1.72	2.54
22	吡咯	300	樟脑味; 烧焦气息	1.43	0.57	0.97	0.53	0.60	1.13
23	咖啡因	none	苦味	/	/	/	/	/	/

注：“/”表示未知。

2.3.4 系统聚类热图分析

利用 SPSS 23.0 软件对数据矩阵进行聚类分析, 构建 6 种样品间聚类分析热图, 为进一步研究其成分变化, 本研究选取在 CK、GK、HK、JK、ZK、MK 中检测到的 12 种特征香气物质并对其含量变化进行热图分析^[28]。如图 5 所示, 是以关键香气物质数据矩阵 (6 个样品×12 个变量) 为输入变量的系统聚类热图。横向比较得出, ZK 与 JK 中 2,5-二甲基吡嗪、糠醇、2,6-二甲基吡嗪等物质含量较为突出; CK 与 HK 中糠醛、5-甲基-2-呋喃甲醛含量最为显著。纵向分析可知, CK 和 HK 聚为一类, 说明特征香气物质含量较为相近, GK 和 MK 及 JK 聚为一类, 但与 CK、HK 中成分含量存在显著差异; 而 ZK 与其它组成成分差异明显, 则单独聚为一类。在 CK、HK、ZK 中, 糠醛的含量均为最高的。

2.4 不同酿酒酵母处理烘焙咖啡豆感官评价分析

为了确定不同样品间存在的实际感官差异, 根据 SCAA 标准对六种咖啡样品进行了杯测, 根据咖啡的主要特征, 对香气 (干香、湿香)、风味、酸度、醇度、余韵、均衡感以及整体可接受性进行评分, 通过分数高低确定咖啡等级, 如分数达到 80 以上的称之为精品咖啡。由表 4 可知, 咖啡各项指标得分在 6.83~7.83 之间, 整体上存有偏差性但差异较小, 表明六种咖啡的风味质量整体比较稳定。咖啡总分分布在 81.25~83.00 分左右, 其中 GK 得分最高达到 83.00, JK 得分 81.58, 而 CK 得分则为最低值 (81.25)。其中 JK 风味最为突出, 得分为 7.50, 且酸度较 CK 有所降低, 降低了咖啡的酸涩度, 对最终整体评分的影响较大。除 GK 之外, JK 余韵及均衡感均高于其它。这是由于不同人群的味觉感知系统有所差异, 并且品尝间隔时间较短, 余韵感、均衡感尚未完全消失, 对于其它样品具有一定的影响, 导致其差异性较小。综合评定, 咖啡杯测总分在不同酿酒酵母处理后的得分要高于未处理的烘焙豆, 则表明酿酒酵母作为发酵剂对咖啡风味有一定的提升作用。

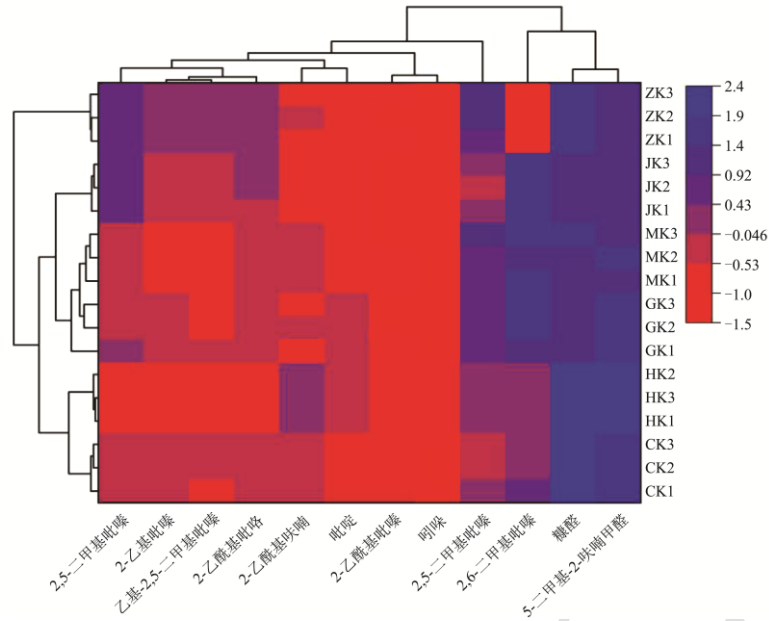


图 5 不同处理烘焙豆中关键香气成分热图分析

Fig.5 Heat map and hierarchical clustering analysis (HCA) of key aroma compounds in roasted beans with different treatments

表 4 六种咖啡杯品感官指标评分表

Table 4 Analysis of sensory indicators of coffee cupping in six coffee samples

感官测评指标	CK	GK	HK	JK	ZK	MK
香气/Aroma	7.24±0.24 ^{bc}	7.67±0.12 ^{bc}	7.58±0.42 ^b	7.08±0.12 ^c	7.42±0.12 ^b	7.33±0.31 ^b
风味/Flavor	7.00±0.00 ^c	7.42±0.12 ^{bc}	7.67±0.12 ^b	7.50±0.20 ^{bc}	6.83±0.42 ^c	7.33±0.31 ^b
酸度/Acidity	7.58±0.24 ^b	7.33±0.12 ^c	7.83±0.47 ^b	7.42±0.31 ^{bc}	7.08±0.12 ^{bc}	7.17±0.24 ^b
醇度/Body	7.33±0.31 ^{bc}	7.67±0.12 ^{bc}	7.33±0.31 ^b	7.08±0.12 ^c	7.17±0.12 ^{bc}	7.50±0.35 ^b
余韵/Aftertaste	7.25±0.35 ^{bc}	7.50±0.20 ^{bc}	7.50±0.00 ^b	7.25±0.20 ^{bc}	7.17±0.12 ^{bc}	7.33±0.31 ^b
均衡感 Balance	7.33±0.31 ^{bc}	7.75±0.20 ^b	7.58±0.42 ^b	7.58±0.42 ^{bc}	7.50±0.20 ^b	7.58±0.24 ^b
一致性/Uniformity	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a
纯净度/CleanCup	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a
甜度/Sweetness	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a
综合评价/Overall	7.33±0.31 ^{bc}	7.67±0.31 ^{bc}	7.43±0.13 ^b	7.67±0.31 ^c	7.33±0.24 ^c	7.25±0.35 ^b
总分	81.25±0.94 ^{ab}	83.00±0.20 ^a	82.93±0.92 ^a	81.58±1.23 ^{ab}	80.50±1.08 ^b	81.50±0.89 ^{ab}

注：同列左肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。

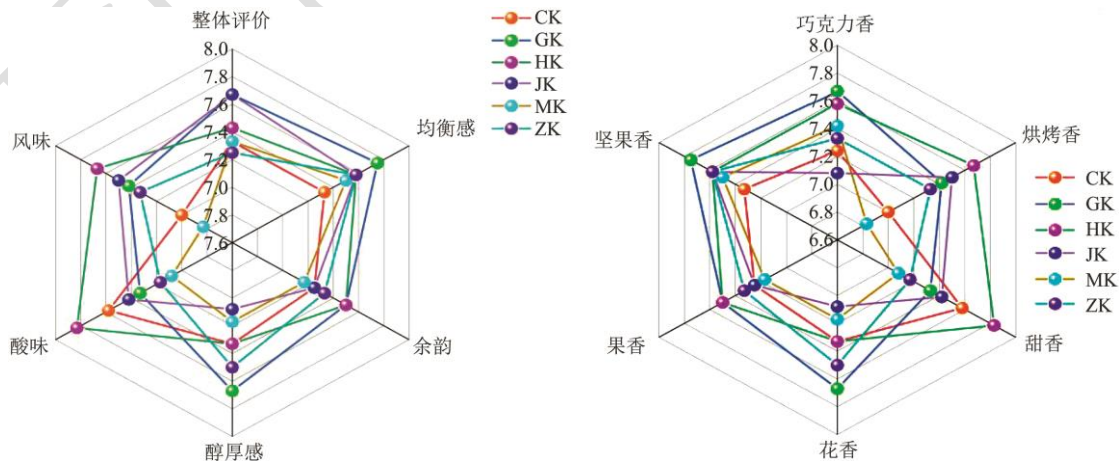


图 6 不同处理烘焙咖啡豆香气轮廓图

Fig.6 Aroma profile of roasted coffee beans with different treatment

根据香气化合物风味特征^[29]并参照香气轮廓模块类别,将不同酿酒酵母处理烘焙豆的香气成分分为6个系列。如图6所示,咖啡香气主要以坚果香、巧克力香、烤香味、甜香、花香和果香为主。不同处理方式的烘焙豆其坚果香和果香的差异较大,其次是烘烤香和甜香,差异最小的是巧克力香和花香,其中GK坚果香和巧克力香较为突出,而JK的整体评价均高于其它。综上所述,由于香气物质活度值与其含量成反比,含量越小其OAV值反而偏大,OAV值越大则表明该物质对香气体系的贡献作用越大,因此6种不同酿酒酵母处理所得烘焙豆最终香气也有所差异。

2.5 不同酿酒酵母处理下烘焙咖啡理化指标、特征成分与感官品质相关性分析

为进一步探究不同酿酒酵母处理后烘焙咖啡豆各指标间的相关性,对其进行了Pearson相关性分析。如图7所示为六种不同酿酒酵母处理后烘焙豆内各感官属性指标与关键香气成分之间的关系。上三角区蓝色椭圆表示两者呈正相关,红色椭圆表示两者呈负相关,椭圆越扁颜色越深表明相关性越大,无星号标记表明两者无相关性;下三角区则标明了相关系数。相关系数的绝对值越大,相关性越强,相关系数越接近于1或-1,相关度越强,相关系数越接近于0,相关度越弱^[30]。本实验结果显示,咖啡的余韵感与其总分之间呈正相关,而酸度与糠醇该种化合物之间呈显著负相关($P \leq 0.01$);吡嗪类化合物如2,5-二甲基吡嗪、2-乙基吡嗪、2-乙酰基吡嗪、糠醛、2-乙基吡咯等成分之间呈显著相关。从整体上看,咖啡感官评分受多种吡嗪类物质及其它香气成分之间相互作用使咖啡口感更为均衡。

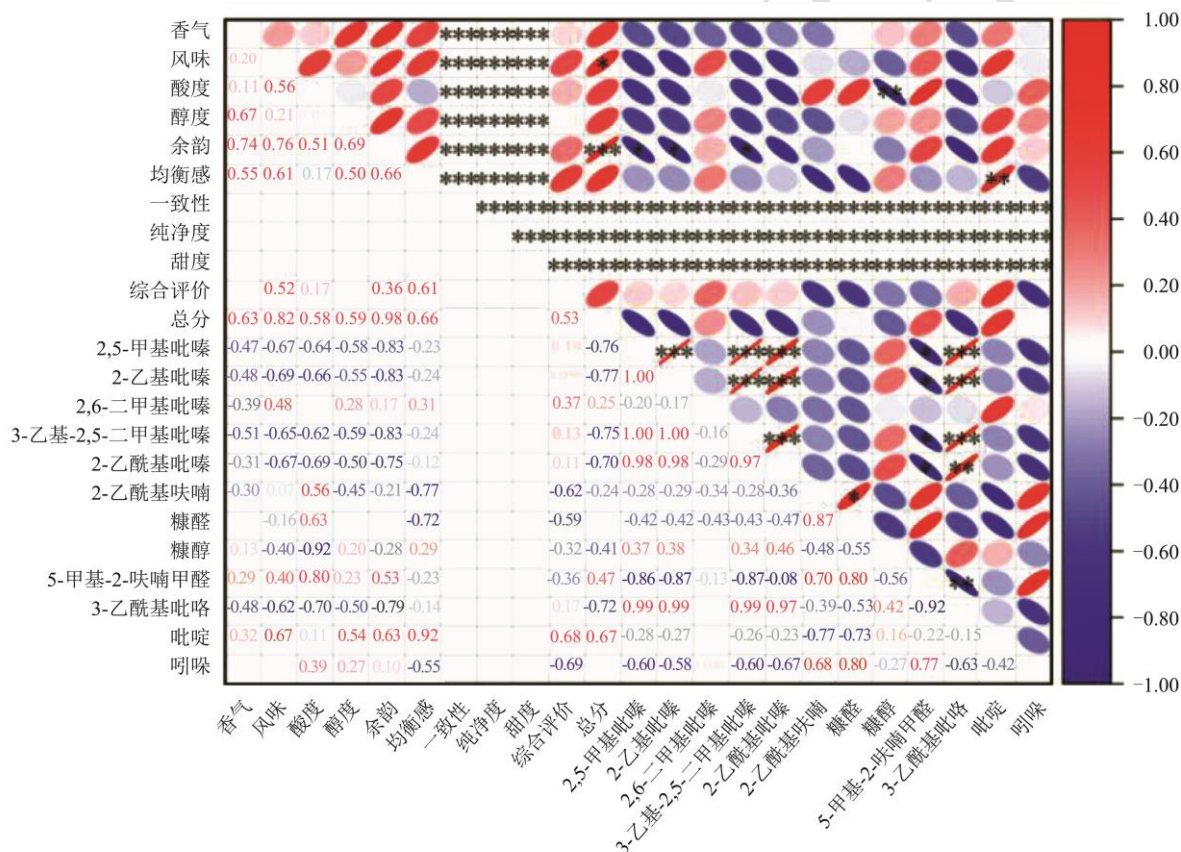


图7 不同处理咖啡豆理化指标、特征成分与感官品质相关性分析

Fig.7 Correlation analysis between characteristic compounds of physical and chemical indexes and sensory quality of coffee with different treatment

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

3 结论

由数据表明,采用HS-SPME/GC-MS对不同酿酒酵母处理所得烘焙豆产生的挥发性化合物进行鉴定与

分析,不同酿酒酵母处理对成分的种类和含量都有影响。其中CK、GK、HK、JK、MK和ZK中检测到成分的种类分别有49、52、50、52、58、46种。主要集中在吡嗪类、酮类、酯类、醛类、酚类、醇类、吡咯

类、吡啶类等几大类化合物。其中, JK 种类较多达到 52 种, 且总含量也显著高于其它, 达到 333.05 $\mu\text{g/g}$ 。吡嗪类化合物在 JK 中的含量也最高为 122.99 $\mu\text{g/g}$, 含量最为显著的是 2,5-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2,3-二甲基吡嗪等, 该类化合物增加了咖啡的坚果香及烘烤香; OAV 分析表明, OAV 值不小于 1 的物质有 12 种, JK 样品中的 OAV 中关键香气活度值也较高, 其中以 3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-乙酰基吡咯、2,5-二甲基吡嗪在 JK 样中香气活度值较高, 这些化合物对咖啡香气体系的贡献作用较大。

根据感官评价分析可以看出, 不同酿酒酵母处理所得烘焙豆感官品质在整体上存有差异性, 但偏差较小, 这表明不同酿酒酵母处理后的烘焙豆其感官在整体上趋于稳定, 咖啡总分位于 81.25~83.00 之间, GK 得分最高达到 83.00, 而 CK 得分则为最低值(81.25)。其中 JK 样品的风味评分较高, 余韵、均衡感得分均高于其它样品, 并其酸度小于 CK 样品, 从而改善咖啡的酸涩感。

根据分析表明, 成分含量的高低受到不同酿酒酵母的影响, 从而造成成分种类、含量具有明显差异。在 JK 中吡嗪类化合物的数量和含量均高于其它样品, 进一步明晰添加了酿酒酵母对半干法咖啡中香气物质的变化规律。综合来看, CMCC 1557 菌作为微生物发酵剂对咖啡风味有显著提升作用, 是一种潜在的调制味道和香气的方法, 为半干法咖啡工艺改进和品质提升提供了理论支撑。

参考文献

- [1] Cheng B, Furtado A, Smyth H E, et al. Influence of genotype and environment on coffee quality [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 57: 20-30.
- [2] Dong W J, Tan L H, Zhao J P, et al. Characterization of fatty acid, amino acid and volatile compound compositions and bioactive components of seven coffee (*Coffea robusta*) cultivars grown in Hainan province [J]. Molecules, 2015, 20(9): 16687-16708.
- [3] Gka B, Saa B, Lfa C, et al. The impact of different filter baskets, heights of perforated disc and amount of ground coffee on the extraction of organics acids and the main bioactive compounds in espresso coffee [J]. Food Research International, 2020, 133: 109-220.
- [4] 陈援援, 刘文秀, 马凯华, 等. 接种乳酸菌发酵剂对风干肠成熟过程中微生物群落动态变化及感官品质的影响[J]. 肉类研究, 2022, 36(2): 1-8.
- [5] 陈芝飞, 蔡莉莉, 郝辉, 等. 香气活力值在食品关键香气成分表征中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 329-335.
- [6] Martinez S J, Bressani A, Miguel M, et al. Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures [J]. Food Research International, 2017, 102: 333.
- [7] Riberiro L S, Riberiro D E, Evangelista S R, et al. Controlled fermentation of semi-dry coffee (*Coffea arabica*) using starter cultures: A sensory perspective [J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 82: 32-38.
- [8] Bressani A, Martinez S J, Sarmento A, et al. Organic acids produced during fermentation and sensory perception in specialty coffee using yeast starter culture [J]. Food Research International, 2019, 128: 108773.
- [9] 赵林芬, 弘子珊, 杨凯, 等. 酿酒酵母多物混合发酵对咖啡豆风味品质的影响[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(4): 72-78.
- [10] Riberiro L S, Gabriela D C P M M, Evangelista S R, et al. Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage [J]. Food Research International, 2017, 92(2): 26-32.
- [11] 张厅, 刘晓, 熊元元, 等. 四川黑茶渥堆过程中主要品质成分和茶汤色差变化及其相关性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 9: 154-162.
- [12] Dong W J, Hu R S, Chu Z, et al. Effect of different drying techniques on bioactive components, fatty acid composition, and volatile profile of robusta coffee beans [J]. Food Chemistry, 2017, 234: 121-130.
- [13] Bressanello D, Liberto E, Cordero C, et al. Coffee aroma: Chemometric comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC-MS to describe the sensory properties in cup [J]. Food Chemistry, 2016, 214: 218-226.
- [14] 胡荣锁, 方乐天, 况沁蕊, 等. 云南临沧产区咖啡干香感官特征解析及杯品质量分析[J]. 食品科学, 2021, 42(20): 180-187.
- [15] Hellwig M, Henle T. Maillard reaction products in different types of brewing malt [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(48): 14274-14285.
- [16] Gomez L A, Benavides J, Rito P M. Growth kinetics and fucoxanthin production of *Phaeodactylum tricornutum*, and *Isochrysis galbana*, cultures at different light and agitation conditions [J]. Journal of Applied Phycology, 2016, 28(2): 849-860.
- [17] 丛莎, 董文江, 赵建平, 等. 采用 HS-SPME-GC/MS 和电子鼻技术解析生咖啡豆加速贮藏期挥发性组分的变化规律[J]. 现代食品科技, 2020, 36(7): 250-262.

- [18] Sunarharum W B, Williams D J, Smyth H E, et al. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective [J]. *Food Research International*, 2014, 62: 315-325.
- [19] Han X, Xin Q, Yang S, et al. Study on the diversity of non-Saccharomyces yeasts in Chinese wine regions and their potential in improving wine aroma by β -glucosidase activity analyses [J]. *Food Chemistry*, 2021: 129886.
- [20] Schwarz L V, Marcon A R, Delamare A P L, et al. Selection of low nitrogen demand yeast strains and their impact on the physicochemical and volatile composition of mead [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 57(8): 2840-2851.
- [21] Rosend J, Kuldj ärv R, Rosenvald S, et al. The effects of apple variety, ripening stage, and yeast strain on the volatile composition of apple cider [J]. *Heliyon*, 2019, 5(6): 01953.
- [22] Li C X, Zhao X H, Zuo W F, et al. The effects of simultaneous and sequential inoculation of yeast and autochthonous *Oenococcus oeni* on the chemical composition of red-fleshed apple cider [J]. *LWT*, 2020, 124: 109184.
- [23] Perchat N, Saaidi P L, Darii E, et al. Elucidation of the trigonelline degradation pathway reveals previously undescribed enzymes and metabolites [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(19): E4358.
- [24] J J Gallardo-Chacón, S Vichi, E López-Tamames, et al. Changes in the sorption of diverse volatiles by *saccharomyces cerevisiae* lees during sparkling wine aging [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(23): 12426-12430.
- [25] 毛多斌,陈欢,杨靖,等.阈值测定在食品特征香气分析中的应用综述[J].*轻工学报*,2012,27(4):52-55.
- [26] 李智宇,王凯,昌德寿,等译 2 版.化合物嗅觉阈值汇编[M].北京科学出版社,2018:1-208.
- [27] 张曼,钟涛,魏雪,等.不同非酿酒酵母与酿酒酵母混合发酵对脆红李酒品质的影响[J].*食品与发酵工业*,2021,47(12): 110-116.
- [28] 张铭铭,尹洪旭,邓余良,等.基于 HS-SPME/GC×GC-TOFMS/OAV 不同栗香特征绿茶关键香气组分分析[J].*食品科学*,2020,41(2):244-252.
- [29] Zheng Y, Yang P, Chen E, et al. Investigating characteristics and possible origins of off-odor substances in various yeast extract products [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020(8): 1-9.
- [30] 邓云,胡荣锁,陆敏泉,等.德宏州生咖啡风味组分与海拔相关性研究[J].*食品工业科技*,2017,38(2):166-169.