

超临界流体萃取法脱除云南小粒咖啡豆中 咖啡因的研究及评香模型初建*

刘锦耀 赵建平 张先俊 王 梅 刘维涓

(云南省分析测试研究所 昆明 650051) (云南大学化学系 昆明 650091)

摘要 应用超临界流体萃取技术(SFE)脱除云南小粒咖啡豆中的咖啡因,取得较好效果;采用顶空气相色谱、色/质谱手段,对SFE处理前后的咖啡中的香味成分进行了对比分析,提出了一种用于进行咖啡香味鉴评的模型。

关键词 超临界流体萃取、咖啡因

1 前言

产于云南高原干热河谷地区的小粒咖啡,原属阿拉伯种(*Coffea arabica* L.)及其变种,引种到云南已有数十年历史。云南小粒咖啡色正味纯,香而不苦,浓而不烈,被许多国家誉为世界上质量最好的咖啡之一^[1]。咖啡已成为云南迅速崛起的新兴产业。然而,传统咖啡制品所富含的咖啡因成分不利于健康的弊端。近年国际市场上一种咖啡因含量较低的咖啡新产品正日益受到人们的青睐。其制取方法原来常用的是水蒸汽蒸馏法或二氯甲烷浸出法。但前者常造成芳香成分损失,后者则有溶剂残毒之虞。七十年代西德率先用超临界二氧化碳流体萃取法脱除咖啡制品中的咖啡因,并实现了工业化生产^[2]。

我们采用4L规模进口超临界流体萃取(SFE)装置,分离、脱除云南小粒咖啡中的咖啡因的试验获得较好效果。还采用顶空气相色谱(GC)、气相色谱/质谱(GC/MS)联用等手段,对SFE萃取前后的咖啡微量组分进行了对比分析及初步定性。同时提出一种简易的鉴评模型,用以选择较佳SFE操作条件。此模型也可用于咖啡香味鉴评。本项研究对小粒咖啡的深化开发具有较大的现实意义。

2 实验部分

2.1 实验装置

超临界流体萃取装置 Nova Swiss 型,瑞士制造。双泵头压缩机,最高萃取压力95MPa,最高萃取温度90℃,萃取容器体积4L,2L(任选)。以食品级二氧化碳为萃取流体。

气相色谱仪 PE 8700 型,美国 PE 公司制造,带有 HS-6B 顶空分析附件并附进样器后冷阱富集装置。采用 SE-54 石英毛细管柱(25m)及氢焰检测器。

气相色谱/质谱仪 Q Mass-910 型,美国 PE 公司制造, EI 源,电离电压 70eV,载气为氦气,使用 SE-54 石英毛细管柱(50m),附进样器后冷阱富集装置。

2.2 实验材料

产自云南西南部潞江坝地区、经自然发酵的小粒咖啡原豆。

2.3 实验方法

1. 进行 SFE 研究时,先将小粒咖啡豆用冷水浸润 4h,置入 4L 萃取器中,启动萃取装置,按预先设定好的温度、压力进行循环萃取。萃出咖啡因后的咖啡豆用咖啡小型焙炒专用设备在 250℃ 条件下焙炒并粉碎,得到脱过咖啡因的熟咖啡粉样品。以相同方法对未经 SFE 处理的咖啡豆进行焙炒、粉碎,得到未脱咖啡因的熟咖啡粉对照样品。对上述样品中咖啡因含量进行分析,确定咖啡因脱除效果。

2. 取同重量各一份上述样品进行顶空气相色谱分析,以配合 SFE 处理条件与成品香味组分含量关系研究。色谱条件:HS-6B 浴温 90℃(20min);检测器温 260℃;柱温 40℃(8min) $\xrightarrow{2\text{C/min}}$ 50℃ $\xrightarrow{6\text{C/min}}$ 110℃ $\xrightarrow{15\text{C/min}}$ 200℃(5min);载气 N₂(99.99%)。

3. 作 GC 及 GC/MS 分析时,样品在进样后均先进入附有冷阱的富集预柱,约 3min 后撤去冷阱,

* 本课题为云南省应用基础基金资助项目,适逢卢佩章先生七十华诞,谨以本文誌贺
本文收稿日期:1995年4月15日

使预柱及分析柱转入温度程升并采集相应色谱、质谱信号。

3 结果和讨论

3.1 超临界流体的选择

二氧化碳是在超临界流体萃取应用中最常选用的流体,其化学稳定性、安全性、易操作性及价格低廉等优点已广为人知,此外,二氧化碳在临界点(温度 31℃,压力 7.4MPa)附近,当温度、压力略作变动时,会引起密度的大幅度变化。同时二氧化碳的密度 ρ 与许多物质(包括咖啡因)在二氧化碳中的溶解度 S 具有幂相关关系,即: $\ln S = K \cdot \ln \rho + C$ 。式中 K , C 为常数,与溶质及二氧化碳间的亲和力有关。

由上可见,选用二氧化碳为超临界载体流体,有可能在比较容易达到的条件(温度、压力)下,尽可能多地将咖啡因萃出,取得较好的咖啡因脱除效果。我们在实验中曾对萃取温度、压力作了多种变化,结果表明,采用较低温度(70℃)及工业上易于达到的压力(18MPa)条件,可将小粒咖啡中大部分咖啡因脱除。试验还表明,鉴于二氧化碳对咖啡因已具有较强萃取力,载体中一般可不必加入改性剂。

3.2 超临界流体萃取流程的选择

用超临界二氧化碳流体萃取咖啡豆中的咖啡因,一般的工艺装置和流程可简示如图 1。

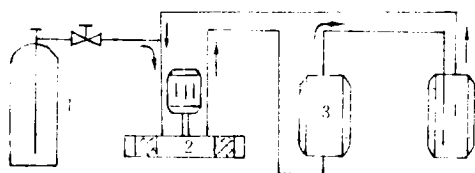


图 1 超临界流体萃取装置及流程

1. CO₂ 钢瓶, 2. 压缩机, 3. 萃取器, 4. 分离器。

我们参考前人工作,分别进行了以下几种提取工艺方式的试验:

1. 将经水浸过的生咖啡豆置于萃取器中,运行后,从分离器中获得咖啡因等提取物。由萃取器获得脱了咖啡因的咖啡豆。

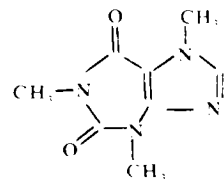
2. 将经水浸过的生咖啡豆置于萃取器中,在分离器中装入活性炭,运行后,咖啡豆中的咖啡因大部分转移到了活性炭中。由萃取器得到脱去咖啡因的咖啡豆。

3. 将经水浸过的咖啡豆与活性炭混合装入萃取器中,运行后,将去掉咖啡因的咖啡豆与吸附了咖啡因的活性炭过筛分开。

试验结果:在相同温度、压力条件下,以上三种工艺方式对咖啡因的脱除率分别为 68.6%, 76.4%, 78.5%。上述试验表明,第二、第三种工艺方式更有效。三种工艺方式均可同时获得副产品咖啡因。

3.3 萃取温度和压力条件的选择

由右方咖啡因结构式可以看出,该杂环生物碱结构较为稳定。实验表明,在 SFE 一般操作条件下,咖啡因具有较好的耐受力。



试验表明,咖啡因的萃出率与萃取压力、温度呈正相关关系。考虑到工业生产时压力不宜过高,且为满足咖啡香味成分尽量减少损失的原则,萃取操作压力和温度都应以低为宜。因此,对云南小粒咖啡豆的萃取工艺,我们经筛选确定的温度为 70℃,压力为 18MPa。

1. 在此温度、压力条件下,咖啡因的萃出率已达到 75% 以上。

2. 云南小粒咖啡是一种清香型的咖啡品种,冲泡后,香气中的头香成分十分丰富。因此,为保持这些香味,选用较低的温度与压力条件是有利的。

迄今为止,对咖啡香味的鉴评尚无一种成熟的仪器方法,基本是依赖于口感品尝。我们在进行 SFE 条件选择时,同样面临着用何种方式进行咖啡香味保持程度的评价与检测的问题。经反复摸索,我们认为采用气相色谱手段,辅以一些相应规则,有可能建立起一套较先进的鉴评方法。

3.4 建立咖啡香味鉴评模型

已知在顶空气相色谱方法中某一组分的量与几种相关物理参数间的平衡关系为:

$$X_i = \frac{A_i}{K_i P_o \gamma_i}$$

式中, X_i 表示样品中 i 组分的摩尔分数; A_i 为该组分的色谱峰面积; K_i 为组分的常数,与所用检测器有关; P_o 表示组分 i 纯品的蒸汽压; γ_i 为组分 i 的活度系数。式中的 $1/K_i P_o \gamma_i$ 在一定条件下可当作一常数,相当于组分 i 在特定条件下的校正因子。

在相同顶空气相色谱条件下,比较容易建立起如下关系: $\frac{A_{i1}}{A_{i2}} = \frac{C_{i1}}{C_{i2}}$ 。式中, C_{i1} 为组分 i 在样 1 中的含量; A_{i1} 为组分 i 在样 1 中所对应的峰面积; C_{i2} 为组分 i 在样 2 中的含量; A_{i2} 为组分 i 在样 2 中所对应的峰面积。

可见采用顶空气相色谱的方法,可以定量地测定咖啡中各种微量组分的含量或作相对比较。

考虑到云南小粒咖啡含有丰富的低沸点香味组分,因此在建立的咖啡香味鉴评模型的第一部分,以顶空气相色谱法测得的 10 个易挥发且对香味有明显影响的组分峰面积之和 $\sum A_i$ (见图 2、3 及表 1 的

甲基咪喃、乙酸等 10 个选定组分) 作为该咖啡样头香成分的成分参量。模型的第二部分选用气相色谱法测得的咖啡的水浸出液高沸点馏段 5 个组分峰面积之和 $\sum A'_i$ (本研究选咖啡因、十六酸、硬脂酸等组分) 为其参量。

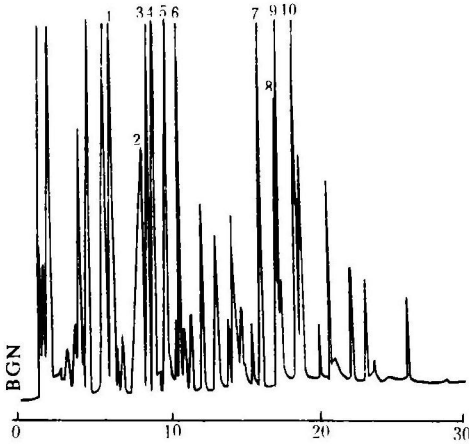


图 2 未经 SFE 处理的咖啡样顶空气相色谱图

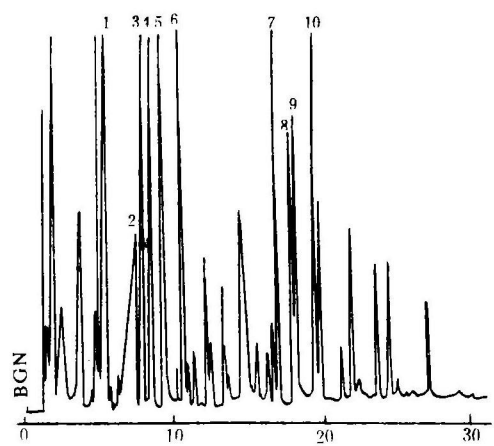


图 3 经 SFE 处理脱咖啡因的咖啡样顶空气相色谱图

表 1 选出的 10 种咖啡微量组分及其 HS/GC 分析峰面积

峰号	组分名称	峰面积(mm ²)	
		未经 SFE 处理	经过 SFE 处理
1	2-甲基咪喃(Furan, 2-methyl)	28.2896	16.7387
2	醋酸(Acetic acid)	35.9280	28.3133
3	戊醛(Pentanal)	21.1258	16.0417
4	2-甲基丁醛(Butanal, 2-methyl)	36.9001	27.7439
5	丙酸乙酯(Propionic acid, 2-pro-, ethyl ester)	34.5439	31.9731
6	2,3-戊二酮(2,3-Pentanedione)	36.5439	31.9969
7	2,3-二甲基-环氧乙烷(Oxirone, 2,3-dimethyl-)	22.1722	22.0981
8	4-吡啶胺(4-Pyridinamine)	16.1569	16.8959
9	2-咪喃醛(2-Furancarboxaldehyde)	23.3334	19.3181
10	2-甲基对丙烯基酚乙酸酯(2-Furanreethanol)	32.4157	36.8749

因而得到

$$Q = \sum A_i + \sum A'_i$$

式中 Q 为咖啡香味表征量。

为提高 Q 值的测定重复性,一般应在样品中加入内标物。此时得到较完整的香味鉴评模型为:

$$Q = \sum \frac{A_i}{A_s} + \sum \frac{A'_i}{A'_s}$$

我们将上述模型用于对已经 SFE 处理和未处理的同一咖啡样的香味变化鉴评,求出 $Q_{已萃}/Q_{未萃} = 85\%$ 。此结果表明,经 SFE 处理的咖啡中主要微

量组分略有损失,但不显著。而上述两样品经上百人次口感鉴评,其结论为:两者风味及口感相似,但经处理的样品味道略淡一点。由此可见,我们建立的模型与人们口感鉴评咖啡香味的结果是吻合的。

我们已将本模型用于小粒咖啡中脱除咖啡因的 SFE 温度、压力条件选定,取得较好效果,避免了依赖口感鉴评香味的人为误差。

3.5 云南小粒咖啡的色谱/质谱鉴定

有人^[3,4]用顶空气相色谱/质谱方法对咖啡香味成分作过鉴定,并检出了约 60 个微量组分。但认为

必须采用高灵敏度、高分辨率的质谱仪器。为配合前述香味鉴评模型的建立及确定 SFE 操作条件的需要,并作为首次对云南小粒咖啡 GC/MS 分析探索,我们用预柱低温富集顶空样品的方法,以普及型

GC/MS 仪(Q/Mass 910)成功地对云南小粒咖啡挥发性微量组分进行了分析,鉴定出云南小粒咖啡制品中一批微量组分,效果甚佳(见表 2)。

表 2 用顶空气相色谱/质谱法检出的云南小粒咖啡中微量组分

峰号	物质名称	分子式	峰号	物质名称	分子式
1	丙酮	C ₃ H ₆ O	18	1-甲基-1H-吡咯	C ₅ H ₇ N
2	甲基乙酸酯	C ₃ H ₆ O ₂	19	吡啶	C ₅ H ₅ N
3	2-甲基-丙醛	C ₄ H ₈ O	20	4-甲基-2,3-戊二酮	C ₅ H ₁₀ O ₂
4	2,3-丁二酮	C ₄ H ₆ O ₂	21	未检出	
5	2-丁酮	C ₄ H ₈ O	22	未检出	
6	2-甲基-呋喃	C ₅ H ₆ O	23	2,3-二甲基-环氧乙烷	C ₄ H ₁₀ O
7	3-甲基-呋喃	C ₅ H ₆ O	24	4-吡啶胺	C ₅ H ₆ N ₂
8	醋酸	C ₂ H ₄ O ₂	25	2-呋喃醛	C ₅ H ₄ O ₂
9	戊醛	C ₅ H ₁₀ O	26	未检出	
10	2-甲基-丁醛	C ₅ H ₁₀ O	27	2-甲氧基呋喃	C ₅ H ₈ O ₂
11	丙酸乙酯	C ₅ H ₈ O ₃	28	2-乙基-1,2-乙二醇	C ₅ H ₁₀ O ₄
12	未检出		29	甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃
13	2,3-戊二酮	C ₅ H ₈ O ₂	30	2,5-二甲基嘧啶	C ₅ H ₈ N ₂
14	2,5-二甲基-呋喃	C ₅ H ₈ O	31	乙基吡啶	C ₆ H ₈ N ₂
15	3-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	32	未检出	
16	未检出		33	2-甲基对丙烯基酚乙酸酯	C ₇ H ₈ O ₃
17	1H-吡咯	C ₄ H ₅ N	34	未检出	

本研究表明,采用简易、快捷的顶空气相色谱/质谱分析手段,也可作为咖啡香味成分香检、质控的有效手段,具有较大实用价值。

致谢 本工作得到刘启、何春茂先生大力协助,谨表谢意。

参 考 文 献

- 1 云南省科委编. 云南生物资源开发战略研究. 昆明: 1990:201
- 2 Hills J W, Hill H H. Anal Chem, 1991;63:2152
- 3 Vitzthum O G, Werkhoff P. J Agric Food Chem, 1975;23:500
- 4 Wan C M, Jahn M T, Wang T H *et al.* Chromatographia, 1983;17:41

Removing Caffeine in Yunnan Coffee Beans by Supercritical Fluid Extraction (SFE) Technique and Setting up a Model for Coffee Flavour Appraisal

Liu Jinyao, Zhao Jianping, Zhang Xianjun and Wang Mei

(Yunnan Province Analysis and Testing Research Institute, Kunming, 650051)

Liu Weijuan

(Department of Chemistry, Yunnan University, Kunming, 650091)

Supercritical fluid extraction (SFE) technique was applied to remove caffeine in Yunnan Coffee Beans with effective results. With HS-GC, GC/MS, the fragrance compositions in the coffee beans both SFE-treated and untreated were analyzed and compared. A model for coffee flavour appraisal was raised.

Key words supercritical fluid extraction, caffeine