

云南不同地区烘焙咖啡豆挥发性成分的 HS-SPME/GC-MS 分析

张 丰^{1,2,3,4}, 董文江^{2,3,4}, 王凯丽^{2,3,4}, 谷风林^{2,3,4}, 熊善柏¹, 赵建平^{1,2,3,4,*}

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070;

2. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南万宁 571533;

3. 农业部香辛饮料作物遗传资源利用重点实验室, 海南万宁 571533;

4. 国家重要热带作物工程技术研究中心, 海南万宁 571533)

摘要:采用顶空固相微萃取法(HS-SPME)结合气相色谱-质谱联用(GC-MS)对云南三个地区(普洱、保山、临沧)烘焙咖啡的挥发性物质进行分析,考察不同萃取条件(萃取头、萃取温度、萃取时间、样品量)对挥发性物质萃取效果的影响,利用主成分分析(PCA)和系统聚类分析(HCA)对不同地区样品进行区分。结果表明:在最优的萃取条件下,共鉴定出65种挥发性物质,其中呋喃类物质含量最高,三个地区分别为46.15%、41.45%和41.16%;硫化物和呋喃酮类物质含量较少;不同地区样品在PCA的二维得分投影图上各自聚为一类,HCA的最小二乘树状图分类结果与PCA相一致。

关键词:云南咖啡,挥发性成分,气相色谱-质谱联用,系统聚类分析,主成分分析

Comparative analysis of aromatic components of roasted coffee beans from different geographical origins in Yunnan province by HS-SPME/GC-MS

ZHANG Feng^{1,2,3,4}, DONG Wen-jiang^{2,3,4}, WANG Kai-li^{2,3,4}, GU Feng-lin^{2,3,4},
XIONG Shan-bai¹, ZHAO Jian-ping^{1,2,3,4,*}

(1.College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2.Spice and Beverage Research Institute, CATAS, Wanning 571533, China; 3.Key Laboratory of

Genetic Resources Utilization of Spice and Beverage Crops, Ministry of Agriculture, Wanning 571533, China;

4.National Center of Important Tropical Crops Engineering and Technology Research, Wanning 571533, China)

Abstract: Headspace solid-space microextraction (HS-SPME)/gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) was applied to analyze the aromatic components of coffee beans collected from three areas (Puer, Baoshan, Lincang) in China. Different extraction conditions (SPME fibers, sample weight, extraction temperature, extraction time) were applied to test the influence on extraction efficiency. Samples discrimination was achieved by principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA). The results indicated that a total of 65 aroma components were identified in coffee beans under optimum conditions, among them, furans compounds were the most abundant component (46.15%, 41.45% and 41.16% respectively), whereas sulfurs and furanone compounds accounted for less, respectively. PCA and HCA showed that these coffee samples could be clearly differentiated according to geographical origins.

Key words: Yunnan coffee; volatile components; GC-MS; hierarchical cluster analysis (HCA); principal component analysis (PCA)

中图分类号: TS273

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)11-0273-08

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.047

咖啡(*coffea.spp.*)是茜草科(*Rubiaceae*)、咖啡属(*coffea*)常绿灌木或小乔木,和茶叶、可可并称为世

界三大饮料。阿拉比卡(*Coffea arabica L.*)和罗布斯塔(*Coffea robusta*)是咖啡两大主要品系,其中阿拉比

收稿日期: 2014-09-04

作者简介: 张丰(1990-),男,硕士研究生,研究方向:食品工程。

* 通讯作者: 赵建平(1965-),男,本科,研究员,从事热带特色香料饮料作物加工及新产品研发。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31440071); 中国热带农业科学院院本级基本科研业务费项目(1630012014017; 1630052012017)。

卡咖啡因较低的咖啡因含量和柔和的香气占世界咖啡产量的 65% 左右。我国云南的普洱、保山、临沧、德宏为国内咖啡的主产区,其种植面积和产量占全国的 98% 以上^[1]。

生咖啡豆中的化学组分由于烘焙发生一系列反应如美拉德和焦糖化反应等^[2]才能形成咖啡特有的风味。目前,国外科学工作者已经鉴定出咖啡中绝大部分的挥发性物质,并对咖啡的特征香气物质进行了研究。Gonzalez-Rios O 等^[3]采用溶剂提取结合 GC/MS 对生咖啡豆中的挥发性物质进行分析,共鉴定出 62 种挥发性物质;Czerny M 等^[4]通过对咖啡中 28 种强效香气物质进行分析,利用稳定同位素稀释分析法进行定量,结果表明:2,3-丁二酮,2,3-戊二酮和香兰素的缺失对整体的香气并没有表现出较大的影响。而国内对咖啡的研究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^[5-7],对咖啡挥发性成分研究较少,尤其是对引起云南各主产区咖啡香气差异的化学物质基础以及烘焙咖啡豆的特征香气物质不明确。

由于咖啡种植具有较强的地域性,种植气候对咖啡香气影响较大。本研究以云南普洱、保山、临沧三大不同气候特征咖啡为原料,采用 HS-SPME/GC-MS 对挥发性成分进行分析,利用主成分分析和聚类分析统计学方法对样品进行区分,寻找对不同地区咖啡香气影响较大的特征化合物,为云南地区咖啡产业发展提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

生咖啡豆:普洱咖啡(云南普洱曼老江农业开发有限公司, No:1-3 号)、保山咖啡(云南保山佐园咖啡庄园基地, No:4-6 号)、临沧咖啡(云南临沧凌丰咖啡产业有限公司镇康分公司, No:7-9 号),湿法加工处理得到生咖啡豆;C₇-C₃₀正构烷烃标准品 纯度 99.5%,美国 Sigma 公司。

PRE 1 Z 型咖啡豆烘焙机 德国 probat 仪器公司;VTA 6S3 型咖啡粉碎机 德国 MAHLKONIG 仪器公司;Xrite-SP62 型色差分析仪 美国 Xrite 测色公司;Agilent 7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司;固相微萃取装置和萃取头(65 μ m PDMS/DVB、75 μ m CAR/PDMS、50/30 μ m DVB/CAR/PDMS) 美国 Supelco 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 烘焙豆的制备 称量 100.00g 生咖啡豆于滚筒式咖啡烘焙机中,初始入锅温度为 150 $^{\circ}$ C,保持恒定火力为 6.5,烘焙时间为 12min 得到中度烘焙豆,快速冷却至室温。粉碎,过 40 目筛,色差仪测定色度值 L 为 42.00。将烘焙咖啡豆置于-40 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。

1.2.2 HS-SPME 条件优化 称量 1.00g 粉末样品于 20mL 采样瓶中,加盖密封,置于恒温水浴中预热 20min。将萃取头插入采样瓶中吸附特定时间,取出于 GC-MS 进样口解吸 3min。采用单因素实验选择 HS-SPME 最佳萃取条件:萃取头:在样品量为 0.80g,

萃取温度 50 $^{\circ}$ C,萃取时间 40min 时,其它条件不变,考察 65 μ m PDMS/DVB、75 μ m CAR/PDMS、50/30 μ m DVB/CAR/PDMS 三种萃取头对萃取效果的影响;萃取温度:在萃取头为 75 μ m CAR/PDMS,样品量 0.80g,萃取时间 40min,其它条件不变,考察萃取温度 40、50、60、70、80 $^{\circ}$ C 对萃取效果的影响;萃取时间:在萃取头为 75 μ m CAR/PDMS,样品量 0.80g,萃取温度 60 $^{\circ}$ C 时,其它条件不变,考察萃取时间 10、20、30、40、50min 对萃取效果的影响;样品量:在萃取头为 75 μ m CAR/PDMS,萃取温度 60 $^{\circ}$ C,萃取时间 30min,其它条件不变,考察样品量 0.25、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50g 对萃取效果的影响。同时进行重现性实验以检验方法的可靠性。

1.2.3 GC-MS 测定条件 DB-WAX 色谱柱(30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m);程序升温条件:起始温度为 40 $^{\circ}$ C,保持 2min,以 1.5 $^{\circ}$ C/min 升至 130 $^{\circ}$ C,之后以 4 $^{\circ}$ C/min 升至 200 $^{\circ}$ C,保持 5min;检测器温度(EI) 230 $^{\circ}$ C,进样口温度 250 $^{\circ}$ C,载气为氦气,流速为 1.0mL/min,不分流进样,时间为 3min。质谱条件:接口温度为 250 $^{\circ}$ C,离子源温度为 230 $^{\circ}$ C,电子能量为 70eV,扫描范围 m/z 为 35~350。

1.3 数据分析 通过与 NIST 08 谱库对照,选择匹配度大于 85% 的化合物,并计算其保留指数与文献对照,实现对挥发性物质的定性分析。采用峰面积归一化法进行定量分析。统计学分析在 MATLAB R2010a 平台上运行。

2 结果与分析

2.1 HS-SPME 萃取条件优化

本研究以萃取头、萃取温度、萃取时间、样品量为因素,根据文献报道^[8-9],选择 15 种目标化合物如表 1 所示,以峰面积和分离度作为判别指标,对 HS-SPME 萃取条件进行优化。

2.1.1 萃取头对萃取效果的影响 普洱 1 号(PE1)样品作为 HS-SPME 条件优化的试样。不同涂层的萃取头对挥发性物质的萃取效果不同。DVB/PDMS 涂层萃取头适合于萃取分子量为 50~300 的挥发性胺类、硝基化合物;CAR/PDMS 涂层萃取头适合萃取分子量为 30~225 的挥发性物质;而 CAR/DVB/PDMS 涂层萃取头主要用于萃取分子量为 60~275 的中等极性挥发性化合物^[10]。由图 1 可以看出,CAR/PDMS 萃取头对于吡啶、乙酸等小分子化合物萃取效果要优于另外两种,而咖啡中的挥发性物质多数为分子量小于 200 的极性化合物^[11],可以看出,CAR/PDMS 对糠醇、二糠基甲醚、4-乙基-2-甲氧基苯酚等大分子物质萃取效果较好。总体来讲,CAR/PDMS 的萃取效果优于另外两种萃取头,因此选择 75 μ m CAR/PDMS 为最优萃取头。

2.1.2 萃取温度对萃取效果的影响 如图 2 所示,随着萃取温度的升高,峰面积总和逐渐增加,当温度为 60 $^{\circ}$ C 时,峰面积总和基本趋于平衡,温度继续升高对峰面积总和增加贡献不大。对 HS-SPME 而言,提高温度可以使气相中组分浓度增大,提高萃取效率且缩短平衡时间,但随着温度的升高,挥发性物质在气

表1 目标化合物简介

Table 1 A brief description of selected aromatic components

编号	化合物	缩写
1	乙酸(Acetic acid)	AC
4	2,5-二甲基-吡嗪(2,5-Dimethylpyrazine)	DMP
6	糠醛(Furfural)	FUR
12	糠醇(Furfuryl alcohol)	FA
15	二糠基甲醚(Difurfuryl ether)	DE
17	2,3-戊二酮(2,3-Pentanedione)	PEN
35	2-甲基-5-乙烯基吡嗪(2-Methyl-5-vinylpyrazine)	MV
38	2-乙酰基-3-甲基吡嗪(2-Acetyl-3-methylpyrazine)	AM
45	2-乙酰基吡咯(2-Acetylpyrrole)	PE
47	吡啶(Pyridine)	PYD
52	4-乙基-2-甲氧基苯酚(4-Ethyl-2-methoxyphenol)	EMP
55	糠基甲基硫醚(Furfuryl methyl sulfide)	FMS
57	2-甲基丙酮(2-Methylbutanal)	B2M
59	苯甲醛(Benzaldehyde)	BA
64	麦芽酚(Maltol)	MAT

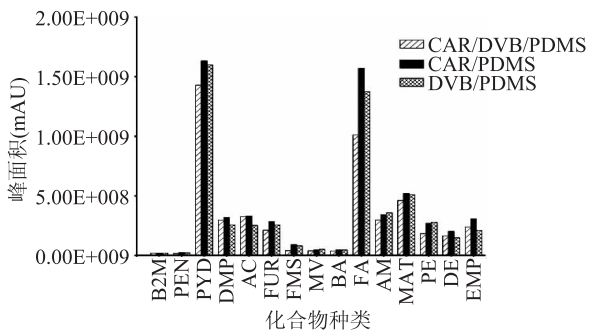


图1 萃取头对样品中挥发性物质萃取效果的影响

Fig.1 Effect of SPME fibers on extraction efficiency of aroma compounds for PE1 sample

相和涂层的分配系数相应降低,从而导致涂层的吸附能力下降^[12],同时考虑到温度可能引起化合物发生化学变化,因此,综合考虑选择 60℃ 为最优萃取温度。

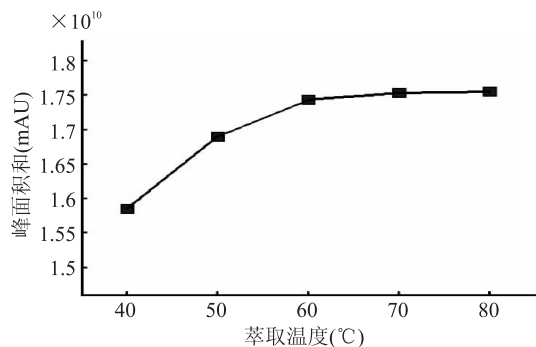


图2 萃取温度对萃取效果的影响

Fig.2 Effect of different extraction temperature on extraction efficiency of aromatic components

2.1.3 萃取时间对萃取效果的影响 如图3所示,随着萃取时间的增加,峰面积呈现先增大后逐渐减小的趋势,当萃取时间为 30min 时,峰面积最大,随着萃取时间的延长,吸附量有所降低,可能是由于随着

时间的延长,半挥发性成分逐渐挥发到顶空中,与易挥发性成分竞争吸附萃取涂层,导致已吸附在涂层表面的易挥发性成分解吸,最终导致吸附量的下降^[13]。因此,选择 30min 为最优萃取时间。

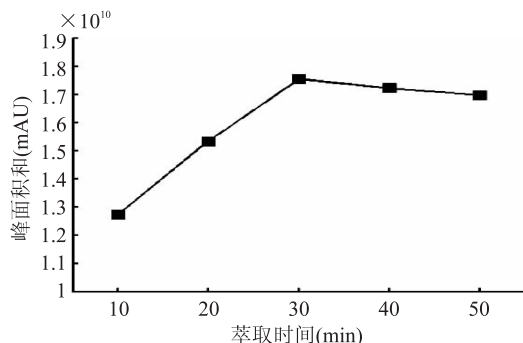


图3 时间对萃取效果的影响

Fig.3 Effect of different extraction time on extraction efficiency of aromatic components

2.1.4 样品量对萃取效果的影响 由图4所示,当样品量从 0.25g 增加至 1.00g 时,总峰面积逐渐增加,范围为 1.42~1.78 × 10¹⁰,此时总峰面积最大;当样品量从 1.00g 增加至 1.50g 时,总峰面积呈缓慢下降的趋势。这主要是由于,在分析过程中样品量过少,导致挥发性较低的产物可能被漏检;而样品量过大,萃取纤维饱和而造成分析结果失真。因此,本实验选择总峰面积最大的样品量为最优样品量,即 1.00g。

2.1.5 HS-SPME 重现性实验 采用最优萃取条件,考查 HS-SPME 重现性,结果如表2所示。目标化合物重现性的相对标准偏差(RSD)范围为 2.28%~12.22%,其中 PEN 的 RSD 值最大,其次为 FUR, RSD 值为 9.88%,EMP 的 RSD 值最小为 2.28%。除 PEN 外,剩余化合物的 RSD 值均小于 10.00%,在实验误差允许范围内,证实了本文所选的 HS-SPME 萃取方法是可行的。

2.2 不同地区烘焙咖啡挥发性物质分析

表2 HS-SPME-GC-MS 检测烘焙咖啡中目标化合物的重现性结果

Table 2 Reproducibility of targeted aroma compounds in roasted coffee by HS-SPME-GC-MS

化合物	1	2	3	4	5	平均值	SD	RSD(%)
B2M	0.095	0.087	0.101	0.090	0.078	0.090	0.009	9.58
PEN	0.100	0.107	0.098	0.087	0.121	0.103	0.013	12.22
PYD	10.255	9.850	11.074	10.102	10.537	10.364	0.469	4.52
DMP	1.575	1.736	1.612	1.549	1.709	1.636	0.082	5.04
AC	2.468	2.622	2.189	2.184	2.629	2.418	0.221	9.15
FUR	2.185	2.324	1.850	2.343	2.387	2.218	0.219	9.88
FMS	0.502	0.530	0.502	0.540	0.463	0.507	0.030	5.92
MV	0.244	0.264	0.243	0.241	0.255	0.249	0.010	3.93
BA	0.255	0.237	0.238	0.250	0.240	0.244	0.008	3.29
FA	9.922	10.110	10.303	9.197	9.973	9.901	0.420	4.24
AM	2.065	1.972	2.088	1.954	2.078	2.031	0.063	3.12
MAT	3.184	2.584	3.090	3.082	3.132	3.014	0.244	8.09
PE	1.774	1.589	1.662	1.769	1.612	1.681	0.087	5.15
DE	1.227	1.233	1.203	1.356	1.122	1.228	0.084	6.84
EMP	1.851	1.843	1.793	1.849	1.912	1.850	0.042	2.28

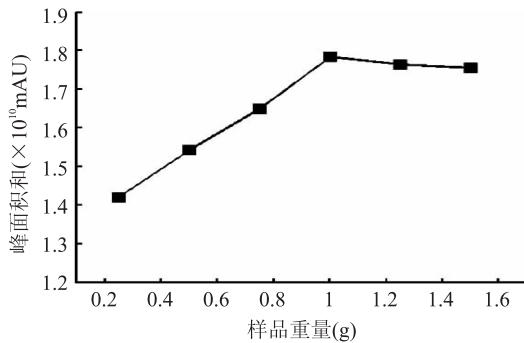


图4 样品质量对萃取效果的影响

Fig.4 Effect of sample weight on extraction of aroma compounds for the PE1 sample according to the sum of peak area

利用上述优化所得的 HS-SPME 条件结合 GC-MS 对云南不同地区烘焙咖啡挥发性物质进行分析。通过与 NIST 08 标准谱库对照,结合相关文献报道,共鉴定出 65 种挥发性物质,主要为酸类、呋喃类、吡嗪类、吡啶类等几类化合物,该结果与文献报道一致^[14-15]。不同地区咖啡的 GC-MS 总离子流色谱图如图 5 所示,普洱(PE)、保山(BS)、临沧(LC)地区的 TIC 图较为相似,仅为峰强度上的差异。咖啡的特征香气是由不同种类、浓度的挥发性物质所决定的,对阿拉比卡烘焙咖啡的香气起主要贡献的化合物为极性物质^[11]。色谱峰对应的挥发性物质及各类化合物含量对比如表 3 和图 6 所示,表中结果显示,共分离鉴定出 65 种香气物质,其中酸类 3 种,呋喃类 13 种,酮类 7 种,吡嗪类 15 种,吡咯类 8 种,吡啶类 3 种,酚类 5 种,硫化物 2 种,醛类 4 种,呋喃酮 1 种和 4 种其它化合物。其中,呋喃类物质在咖啡挥发性物质中含量最高,其风味主要表现为烧焦味和焦糖化味^[16],主要为糠醇、糠酯以及 5-甲基糠醛,不同地区的含量排序为:LC > PE > BS;吡嗪类物质的含量仅次于呋喃类物质,主要表现为烧烤味和泥土味^[17],其

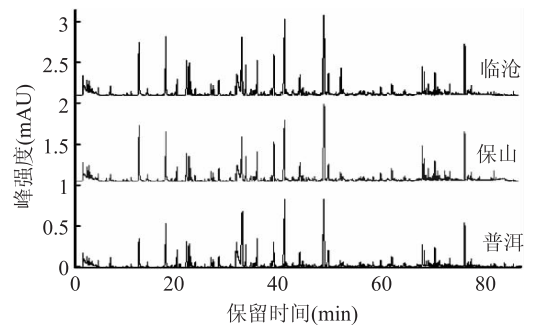


图5 不同地区焙炒咖啡豆香气物质的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.5 GC-MS total ion-current chromatogram of aroma compounds for roasted coffee beans

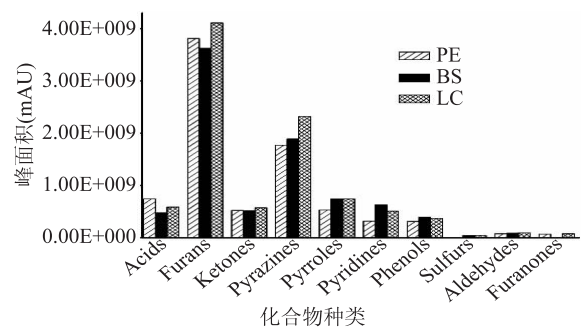


图6 不同地区样品中香气物质含量对比图

Fig.6 Comparison of the main aromatic components of coffee samples according to different geographic origins

中对咖啡香气贡献较大的为 2,5-二甲基吡嗪、2,3-二甲基吡嗪以及 2-乙酰基-3-甲基吡嗪,含量排序为 LC > BS > PE;吡啶类和吡咯类物质主要表现为烟熏味和烧焦味,但是由于这些化合物阈值较高,因而其对咖啡的香气贡献较小^[18];酸类物质如乙酸、丁酸、3-甲基-2-丁烯酸主要影响咖啡的酸味^[19],与其它两个地区相比,普洱地区的酸类物质含量最高;酮类物质主要表现为奶油味和水果味,尤其是 2,3-丁

表3 云南不同地区中度烘焙咖啡挥发性物质的鉴定

Table 3 Aromatic components identified from medium roasted coffee beans in Yunnan province by HS-SPME/GC-MS

序号	保留时间 (min)	化合物	保留指数		相对含量(%)		
			实验值	参考值	普洱	保山	临沧
呋喃类					46.15%	41.45%	41.16%
1	2.706	2-甲基呋喃(2-Methylfuran)	815		0.38 ± 0.04	0.69 ± 0.07	0.56 ± 0.07
2	15.676	糠基甲基醚(Furfuryl methyl ether)	1226	1237	-	0.18 ± 0.00	-
3	31.774	糠醛(Furfural)	1445	1454	10.03 ± 0.05	6.34 ± 0.09	6.99 ± 0.13
4	34.671	2-乙酰基呋喃(2-Acetylfuran)	1483	1483	3.33 ± 0.03	3.06 ± 0.19	3.24 ± 0.05
5	37.902	糠酯(Furfuryl acetate)	1525	1518	3.18 ± 0.02	4.55 ± 0.07	4.16 ± 0.11
6	39.910	5-甲基糠醛(5-methylfurfural)	1551	1574	14.23 ± 0.26	9.55 ± 0.14	11.42 ± 0.16
7	40.104	2-丙酰基呋喃(2-Propanoylfuran)	1554		0.25 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.30 ± 0.05
8	42.458	丙酸糠酯(Furfuryl propanoate)	1585	1578	0.22 ± 0.00	0.35 ± 0.01	0.32 ± 0.01
9	47.465	糠醇(Furfuryl alcohol)	1650	1649	11.50 ± 0.04	13.61 ± 0.20	11.87 ± 0.23
10	60.331	2-乙酰基-5-甲基呋喃 (2-Acetyl-5-methylfuran)	1835		1.51 ± 0.02	1.68 ± 0.00	1.36 ± 0.14
11	62.975	4-(2-呋喃基)-3-丁烯-2-酮 (4-(2-Furyl)-3-buten-2-one)	1876		0.27 ± 0.01	0.21 ± 0.04	0.17 ± 0.01
12	67.339	二糠基甲醚(Difurfuryl ether)	1965	1988	0.55 ± 0.07	0.86 ± 0.03	0.63 ± 0.04
13	79.230	2,3-二氢苯并呋喃 (2,3-Dihydro-benzofuran)	2373	2389	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.00	0.15 ± 0.03
吡嗪类					20.38%	21.63%	23.21%
14	13.772	吡嗪(Pyrazine)	1197	1223	0.58 ± 0.03	0.77 ± 0.01	0.65 ± 0.03
15	17.276	甲基吡嗪(Methyl pyrazine)	1249	1251	5.66 ± 0.12	5.87 ± 0.06	6.10 ± 0.15
16	21.212	2,5-二甲基吡嗪(2,5-Dimethylpyrazine)	1307	1304	3.09 ± 0.04	3.20 ± 0.06	3.48 ± 0.00
17	21.693	2,6-二甲基吡嗪(2,6-Dimethylpyrazine)	1313	1306	2.60 ± 0.03	2.59 ± 0.03	2.86 ± 0.01
18	22.021	乙基吡嗪(Ethyl pyrazine)	1317	1334	1.08 ± 0.02	1.20 ± 0.01	1.13 ± 0.02
19	22.859	2,3-二甲基吡嗪(2,3-Dimethylpyrazine)	1328	1335	0.53 ± 0.01	0.67 ± 0.00	0.59 ± 0.01
20	25.939	2-乙基-6-甲基吡嗪 (2-Ethyl-6-methylpyrazine)	1369	1390	-	-	1.15 ± 0.04
21	26.331	2-乙基-5-甲基吡嗪 (2-Ethyl-5-methylpyrazine)	1374	1363	0.76 ± 0.02	0.81 ± 0.02	0.82 ± 0.02
22	27.359	三甲基吡嗪(Trimethyl pyrazine)	1388	1387	1.17 ± 0.02	1.13 ± 0.02	1.21 ± 0.03
23	29.547	乙烯基吡嗪(Vinyl pyrazine)	1417		0.42 ± 0.00	0.53 ± 0.01	0.44 ± 0.01
24	33.545	2-甲基-6-乙烯基吡嗪 (2-Methyl-6-vinylpyrazine)	1468		0.49 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.48 ± 0.01
25	33.985	2-甲基-5-乙烯基吡嗪 (2-Methyl-5-vinylpyrazine)	1474		0.42 ± 0.00	0.45 ± 0.02	0.42 ± 0.00
26	41.332	异丙烯基吡嗪(Isopropenyl-pyrazine)	1570		0.32 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.35 ± 0.01
27	43.404	乙酰基吡嗪(Acetylpyrazine)	1597	1610	0.69 ± 0.01	0.67 ± 0.07	0.84 ± 0.03
28	48.285	2-乙酰基-3-甲基吡嗪 (2-Acetyl-3-methylpyrazine)	1663		2.56 ± 0.02	2.85 ± 0.02	2.67 ± 0.02
酸类					9.05%	5.46%	5.89%
29	30.886	乙酸(Acetic acid)	1434	1447	7.96 ± 0.08	4.62 ± 0.09	5.09 ± 0.12
30	38.230	丙酸(Propanoic acid)	1529	1530	0.30 ± 0.02	0.20 ± 0.00	0.23 ± 0.00
31	56.806	3-甲基-2-丁烯酸 (3-Methyl-2-butenic acid)	1782	1819	0.80 ± 0.02	0.63 ± 0.00	0.57 ± 0.01
酮类					6.34%	5.91%	5.76%
32	4.363	2,3-丁二酮(2,3-Butanedione)	973		0.39 ± 0.01	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.02
33	6.675	2,3-戊二酮(2,3-Pentanedione)	1043	1047	0.67 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.51 ± 0.03
34	19.389	1-羟基-2-丙酮(1-Hydroxy-2-propanone)	1280	1278	1.89 ± 0.01	1.36 ± 0.03	1.29 ± 0.01
35	24.744	1-羟基-2-丁酮(1-Hydroxy-2-butanone)	1353	1363	0.27 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.02

续表

序号	保留时间 (min)	化合物	保留指数		相对含量(%)		
			实验值	参考值	普洱	保山	临沧
36	32.571	1-乙酰氧基-2-丙酮 (1-Acetyloxy-2-propanone)	1456	1461	2.35 ± 0.02	2.75 ± 0.04	2.69 ± 0.05
37	36.102	1-(2-甲基-1-环戊烯基)乙酮(Methyl (2-methyl-2-cyclopenten-1-yl) ketone)	1501		0.28 ± 0.00	0.32 ± 0.00	0.32 ± 0.01
38	62.768	3-乙基-2-羟基-2-环戊烯-1-酮 (3-Ethyl-2-hydroxy-2-cyclopentenone)	1873	1905	0.49 ± 0.01	0.50 ± 0.03	0.40 ± 0.00
		吡咯类			6.46%	8.50%	7.44%
39	9.826	N-甲基吡咯(1-Methyl-1H-pyrrole)	1123	1138	-	0.16 ± 0.01	0.11 ± 0.01
40	35.827	吡咯(Pyrrole)	1498		-	0.27 ± 0.02	0.26 ± 0.01
41	42.831	N-甲基-2-吡咯甲醛 (2-Formyl-1-methylpyrrole)	1590	1620	1.92 ± 0.02	3.06 ± 0.17	2.37 ± 0.02
42	45.618	2-乙酰基-1-甲基吡咯 (2-Acetyl-1-methylpyrrole)	1627	1683	0.39 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.48 ± 0.01
43	55.836	3-甲基-1-氢吡咯(3-Methyl-1H-pyrrole)	1769		0.38 ± 0.05	0.27 ± 0.01	0.40 ± 0.01
44	58.201	1-糠基吡咯(1-Furfurylpyrrole)	1802	1838	1.10 ± 0.02	1.17 ± 0.01	0.96 ± 0.13
45	66.583	2-乙酰基吡咯(2-Acetylpyrrole)	1948	1970	1.16 ± 0.01	1.64 ± 0.10	1.48 ± 0.13
46	68.585	2-吡咯甲醛 (1H-pyrrole-2-carboxaldehyde)	1994	1965	1.51 ± 0.01	1.41 ± 0.02	1.37 ± 0.01
		吡啶类			3.83%	7.23%	5.12%
47	12.146	吡啶(Pyridine)	1167	1170	3.58 ± 0.03	6.49 ± 0.05	4.79 ± 0.25
48	25.385	3-乙基吡啶(3-Ethylpyridine)	1362		-	0.22 ± 0.01	0.16 ± 0.02
49	79.786	3-羟基吡啶(3-Pyridinol)	2397		0.25 ± 0.02	0.52 ± 0.05	0.17 ± 0.02
		酚类			3.78%	4.54%	3.70%
50	59.480	1-萘酚(1-Naphthalenol)	1822		0.16 ± 0.00	0.18 ± 0.02	0.14 ± 0.04
51	68.228	苯酚(Phenol)	1985	1995	0.42 ± 0.01	0.76 ± 0.02	0.52 ± 0.01
52	69.015	4-乙基-2-甲氧基苯酚 (4-Ethyl-2-methoxy-phenol)	2004	2013	0.45 ± 0.01	0.87 ± 0.02	0.57 ± 0.02
53	71.231	3-甲基苯酚(3-Methyl-phenol)	2071	2071	0.16 ± 0.00	0.15 ± 0.02	0.13 ± 0.03
54	74.247	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚 (2-Methoxy-4-vinylphenol)	2172	2173	2.59 ± 0.06	2.58 ± 0.05	2.34 ± 0.11
		含硫化合物			0.00%	0.49%	0.42%
55	33.380	糠基甲基硫醚(Furfuryl methyl sulfide)	1466	1487	-	0.27 ± 0.01	0.18 ± 0.00
56	65.420	2-噻吩甲醇(2-Thiophenemethanol)	1921		-	0.22 ± 0.10	0.24 ± 0.01
		醛类			0.95%	1.00%	0.98%
57	3.211	2-甲基丁醛(2-Methylbutanal)		913	0.11 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.03
58	3.273	3-甲基丁醛(3-Methylbutanal)		922	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.03
59	35.437	苯甲醛(Benzaldehyde)	1493	1496	0.25 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.26 ± 0.00
60	44.493	3-甲基苯甲醛(3-Methyl-benzaldehyde)	1612	1630	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.36 ± 0.00
		呋喃酮			0.82%	0.00%	0.78%
61	69.402	2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮 (2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H) furanone)	2016	2026	0.82 ± 0.00	-	0.78 ± 0.03
		其他化合物			2.24%	3.80%	5.55%
62	50.672	甘菊蓝(Azulene)	1696	1706	-	-	3.22 ± 0.11
63	54.066	烟酸甲酯(Methyl nicotinate)	1744	1767	-	0.50 ± 0.00	0.32 ± 0.01
64	66.198	麦芽酚(Maltol)	1939	1955	2.10 ± 0.03	3.16 ± 0.22	1.92 ± 0.25
65	80.192	吲哚(Indole)	2413	2427	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.10 ± 0.00

注: *.RI 参考值通过数据库(www.odour.org.uk 以及 www.vcf-online.nl)和参考文献[11,14~15]来确定,-.小于检测限。

二酮和 2,3-戊二酮对咖啡的奶油味贡献较大,对咖啡奶油味贡献较大的还有醛类物质,如 2-甲基丁醛

和 3-甲基丁醛^[20],三个地区咖啡中醛类物质含量相近。酚类物质作为咖啡中一类挥发性物质,其中

4-乙基-2-甲氧基苯酚和4-乙基-2-甲氧基苯酚对香气贡献较大,主要表现为愉悦的丁香风味^[19],其含量大小顺序为 BS > PE > LC; 呋喃酮类对咖啡香气贡献较大,而2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮是文献报道中最为常见的关键香气化合物^[21]。

2.3 主成分分析(PCA)

PCA 应用于挥发性物质组成的数据矩阵(9 样品 × 10 变量)以实现数据集的降维及探索不同地区间样品存在差异的来源^[22], PCA 投影图及载荷图如图 7 所示,前两个主成分的方差贡献率为 96.3%,其中 PC1 和 PC2 的贡献率分别为 60.8% 和 35.5%。在 PC1 方向上,普洱地区样品得分为负、临沧和保山地区得分为正,PC1 方向上投影普洱(蓝色上三角)和临沧(品红色右三角)、保山样品(绿色下三角)分界明显,而临沧和保山样品部分重叠;在 PC2 方向上,临沧样品得分为负、普洱和保山样品得分为正,PC2 方向上投影可将三个地区样品区分开来。依据载荷图可找出对不同地区样品分类贡献较大的香气物质,从图 7 可知,酸类物质同普洱地区样品相关性较高,可作为区分普洱同保山、临沧地区样品的判断指标,而吡嗪类、呋喃类和酮类与临沧地区样品相关性较高,与保山地区样品相关性较高物质主要为吡啶类,上述几类物质基本上可作为不同地区烘焙咖啡豆区分的鉴别依据。

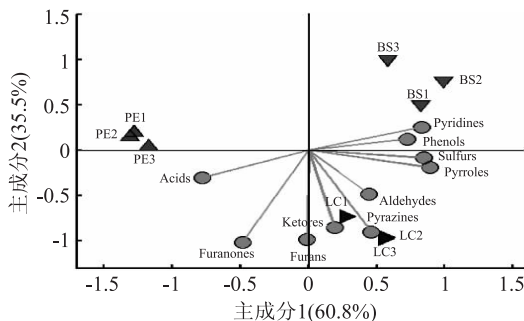


图 7 咖啡中香气物质为输入变量的主成分分析投影图

Fig.7 PCA plot obtained from aroma compounds data on nine coffee samples

2.4 系统聚类分析(HCA)

HCA 是一种无监督模式识别方法,与 PCA 类似,均事先不需知道样品的分类信息^[23]。图 8 为以香气物质数据矩阵(9 样品 × 10 变量)为输入变量的 HCA 最小二乘树状图,从图中可看出,普洱、保山、临沧三个地区样品按各自特性分别聚为一类,当欧氏距离为 0.75 时,可将不同地区样品完全区分开,与 PCA 的分析结果相一致,表明应用此方法鉴别不同地区样品是可行的。

3 结论

HS-SPME 的最优萃取条件:萃取头为 75 μm CAR/PDMS、萃取温度为 60℃、萃取时间为 30min、样品量为 1.00g。重现性实验结果表明:除 2,3-戊二酮 RSD 为 12.2%,其余 14 种目标化合物 RSD 均小于 10%,证明该最优萃取条件重现性良好;共分离鉴定出 65 种香气物质,其中酸类 3 种,呋喃类 13 种,酮类

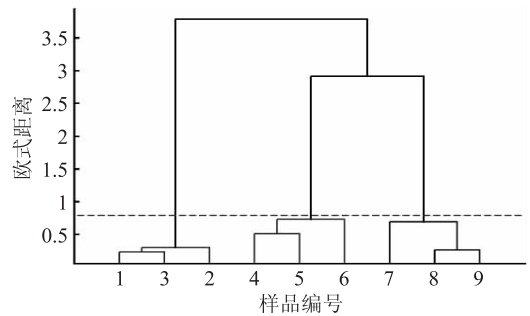


图 8 聚类分析的最小二乘树状图

Fig.8 Dendrogram of hierarchical cluster analysis using aromatic compounds data matrix (9 samples × 10 variables) as input variable

7 种,吡嗪类 15 种,吡咯类 8 种,吡啶类 3 种,酚类 5 种,硫化物 2 种,醛类 4 种,呋喃酮 1 种和 4 种其它化合物;PCA 和 HCA 可区分不同地区烘焙咖啡,酸类物质可作为区分普洱同保山、临沧地区样品的判断指标,吡嗪类、呋喃类和酮类与临沧地区样品相关性较高,与保山地区样品相关性较高物质主要为吡啶类。通过对云南不同地区咖啡中挥发性物质的分析,建立挥发性物质和地区的相关性,根据挥发性物质的差异为判断指标可以很好的区分云南不同地区咖啡,为云南咖啡的生产提供一定的指标意义。同时在此基础上,可以对云南不同地区咖啡的特征香气物质进行研究,进一步明确造成不同地区咖啡香气差异的挥发性物质组成。

参考文献

- [1] 祝运海. 云南普洱咖啡产业发展综述[J]. 饮料工业, 2012, 15(12): 3-7.
- [2] Vignoli J A, Viegas M C, Bassoli D G, et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of Arabica and Robusta coffee [J]. Food Research International, 2014, 61: 279-285.
- [3] Gonzalez - Rios O, Mirna L, Boulanger R. Impact of "ecological" post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20: 289-296.
- [4] Czerny M, Mayer F, Grosch W. Sensory study on the character impact odorants of roasted Arabica coffee [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47: 695-699.
- [5] 何红艳, 文志华, 李国鹏. 咖啡采收后处理及初加工技术 [J]. 广东农业科学, 2008, 12: 119-120.
- [6] 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.
- [7] 黄家雄, 李贵平. 咖啡遗传育种研究进展 [J]. 西南农业学报, 2008, 21(4): 1178-1181.
- [8] Akiyama M, Murakami K, Ohtani N, et al. Analysis of volatile compounds released during the grinding of roasted coffee beans using solid-phase microextraction [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51: 1961-1969.
- [9] Hiroyuki K, Heather L, Januse P. Applications of solid-phase microextraction in food analysis [J]. Journal of Chromatography A,

2000,380(1/2):35-62.

[10] 杨宇川, 辉永庆, 何小波, 等. 固相微萃取法的纤维涂层研究进展[J]. 理化检验, 2008, 44(9): 904-908.

[11] Moon J K, Shibamoto T. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57: 5823-5831.

[12] 陈计峦. 梨香气成分分析、变化及理化特征指标的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005: 29-40.

[13] 戴水平, 肖作兵, 马双双, 等. 基于 GC-MS/GC-O 的新疆烤羊肉香气成分分析[J]. 食品工业, 2010(4): 89-92.

[14] Akiyama M, Murakami K, Ikida M, et al. Characterization of flavor compounds released during grinding of roasted Robusta coffee beans[J]. Food Science and Technology Research, 2005, 11(3): 298-307.

[15] Akiyama M, Murakami K, Ikida M, et al. Analysis of the headspace volatiles of freshly brewed Arabica coffee using solid-phase microextraction[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(7): 388-396.

[16] Lopez-Galilea I, Fournier N, Cid C, et al. Changes in headspace volatile concentrations of coffee brews caused by the roasting process and the brewing procedure[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54: 8560-8566.

[17] Buffo R A, Cardelli-Freire C. Coffee flavour: an overview[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2004, 19: 99-104.

[18] Rocha S, Maeztu L, Barros A, et al. Screening and distinction of coffee brews based on headspace solid phase microextraction/gas chromatography/principal component analysis[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2003, 84: 43-51.

[19] Sollner K, Schieberle P. Decoding the key aroma compounds of a hungarian-type salami by molecular sensory science approaches[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57: 4319-4327.

[20] Akiyama M, Murakami K, Ikida M, et al. Characterization of headspace aroma compounds of freshly brewed Arabica coffees and studies on a characteristic aroma compound of Ethiopian coffee[J]. Food Chemistry, 2008, 109(5): 335-346.

[21] Blank I, Sen A, Grosch W. Potent odorants of the roasted powder and brew of Arabica coffee[J]. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, 1992, 195(3): 239-245.

[22] Shen D, Shen H, Marron J S. Consistency of sparse PCA in high dimension, low sample size contexts[J]. Journal of Multivariate Analysis, 2013, 115: 317-333.

[23] 吕江平. 聚类分析及其可视化方法[J]. 统计与决策, 2005, 19: 24-26.

食品安全法首修 完成重典治乱保“舌尖上安全”

日前,十二届全国人大常委会第十四次会议表决通过了新修订的食品安全法,“服役”5年多的食品安全法完成首次修改。这部将于今年10月1日起正式施行的新食品安全法,将为“舌尖上的安全”带来哪些新的保障?“史上最严”又严在哪里?

剧毒农药不得用于蔬菜瓜果:新法规定,国家鼓励和支持使用高效低毒低残留农药,推动剧毒、高毒农药替代产品的研发和应用,加快淘汰剧毒、高毒农药。禁止将剧毒、高毒农药用于蔬菜、瓜果、茶叶和中草药材等国家规定的农作物。

网购食品出问题可向平台索赔:新版食品安全法中明确,网络食品交易第三方平台提供者应当对入网食品经营者进行实名登记,明确其食品安全管理责任;依法应当取得许可证的,还应当审查其许可证。这意味着,消费者通过网络食品交易第三方平台购买食品,其合法权益受到损害的,可以向入网食品经营者或者食品生产者要求赔偿。值得关注的是,新版食品安全法规定,网络食品交易第三方平台提供者如果不能提供入网食品经营者的真实名称、地址和有效联系方式的,则由网络食品交易第三方平台提供者赔偿,也就是说网络购买食品如出现问题,电商平台也将作为经营主体负责。

对于同样广受关注的转基因食品,新版食品安全法增加规定:生产经营转基因食品应当按照规定进行标示。同时规定,未按规定进行标示的,没收违法所得和生产工具、设备、原料等,最高可处货值金额五倍以上十倍以下罚款,情节严重的责令停产停业,直至吊销许可证。

新增加行政拘留处罚:相较于老法,新版食品安全法加重了食品安全违法犯罪行为的刑事、行政、民事法律责任。新版食品安全法中,为强化对违法犯罪分子惩处的力度,对因食品安全犯罪被判处有期徒刑以上刑罚的,终身不得从事食品生产经营的管理工作。如果违法行为构成犯罪,直接由公安部门进行侦查,追究刑事责任。如果不构成刑事犯罪的话,才由行政执法部门进行行政处罚。此外,新版食品安全法强化了行政法律责任的追究。新增加了行政拘留的处罚,现行的食品安全法当中没有这项规定,没有对违反食品安全法的行为做出限制人身自由的处罚。刘清璐指出,实际上,很多违法者不怕罚,但怕关,怕被拘留。针对这个情况,新法对违法添加非食用物质、经营病死畜禽的严重违法行为,增加了行政拘留的处罚。在罚款方面,新法也对一些违法行为大幅增加罚款额度。比如对生产经营添加药品的食品、生产经营营养成分不符合国家标准的婴幼儿配方乳粉等违法行为,修改前的食品安全法规定,最高可以处罚货值金额10倍的罚款,而新法则提高到30倍。

来源:中国食品科技网