

咖啡香精的热反应制备工艺优化

朱新鹏¹, 姚 敏²

(1.安康学院农学与生命科学院, 陕西 安康 725000; 2.爱普香料集团股份有限公司, 上海 201809)

摘 要:通过正交试验确定热反应制备咖啡香精的工艺条件,并用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对产物进行分析。结果表明,在氨基酸总添加量 5g、还原糖总添加量 4g、丙二醇 100g、95% 乙醇 10g、去离子水 40g、pH6~8 时,优化的工艺条件是葡萄糖和果糖配比 1:1.5、精氨酸和赖氨酸配比 2.5:1、反应温度 115℃、反应时间 4.5h,此条件下所得咖啡香精的颜色和香气最好。样品经正己烷萃取、GC-MS 分析,共检测出糠醇、麦芽酚、二甲基吡嗪、乙酰基吡咯、硫醇等 25 种挥发性风味物质,主要为吡嗪、吡咯、呋喃、酚等及其取代物。

关键词:咖啡香精;热反应;Maillard 反应;气相色谱-质谱联用

Optimization of Preparation of Coffee Flavor by Thermal Reaction

ZHU Xin-peng¹, YAO Min²

(1. College of Agriculture and Life Sciences, Ankang University, Ankang 725000, China;

2. Apple Flavor and Fragrance Group Co. Ltd., Shanghai 201809, China)

Abstract: In this study, orthogonal array design was employed to optimize thermal reaction conditions for the preparation of coffee flavor. This was followed by reaction product analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). When the reaction system was composed of 5 g of amino acids, 4 g of reducing sugar, 100 g of propylene glycol, 10 g of 95% ethanol and 40 g of deionized water at pH 6—8, the optimal reaction conditions were glucose/fructose ratio of 1: 1.5, arginine/lysine ratio of 2.5: 1, reaction temperature of 115 °C, and reaction time of 4.5 h. The reaction resulted in the generation of 25 volatile flavor compounds such as furfuryl alcohol, maltol, dimethyl pyrazine, acetyl pyrrole and mercaptans. Moreover, pyrazine, pyrrodine, furan, phenol and their substitutes were the major volatile flavor compounds.

Key words: coffee flavor; thermal reaction; Maillard reaction; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号: TS264.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)18-0133-05

食用香料是食品添加剂中数量最多、使用面最广的一类添加剂,是食品添加剂的重要组成部分^[1]。调配食用香精的香原料可分为 5 类:天然香料、等同天然香料、人工合成香料、微生物方法制备的香料和反应型香料。反应型香精是一种新型的食用香精,它是由两种或两种以上的前体物质在一定的条件下加热反应产生的。国际食用香料工业组织(international organization of the flavor industry, IOFI)对热反应香精的定义为:一种由食品原料和(或)允许在食品或反应香精中添加的原料加热制备的产物^[2]。其香气物质形成的化学机理主要是 Maillard 反应。Maillard 反应主要指还原糖与氨基酸、蛋白质之间的复杂反应,它与食品加工、疾病生理过程等有重要关系^[3]。各种不同糖类和氨基酸化合物的 Maillard 反应,能获得各种不同的风味^[4],已有研究巧

克力、可可风味的报道^[5]。

咖啡香精是具有咖啡香味特征的多种香味物质的混合物,其主要作用是给相应的食品提供咖啡香味,其香味效果是各种香料化合物分子共同作用的结果。关于咖啡香精制备的报道不多,美国通用食品公司 1986 年申请采用咖啡研磨机加工制备液体咖啡香精的专利(申请号 86102814);余华^[6]采用大豆、薏米、大麦等为原料经烘焙、粉碎、恒温浸提研制出具有咖啡风味的产品;尚未有热反应制备咖啡香精的报道。本研究采用还原糖和氨基酸搭配,通过热反应方法制备咖啡香精。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

葡萄糖、果糖 中国医药上海化学试剂公司; L-

收稿日期: 2010-11-18

作者简介: 朱新鹏(1968—),男,副教授,硕士,研究方向为食品科学。E-mail: zxp5298@sina.com

精氨酸、L-赖氨酸 上海曙光生物化学制品厂；丙二醇、95%乙醇、无水硫酸钠 上海凌峰化学试剂有限公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

PB303型电子天平 Mettler Toledo 仪器(上海)公司；1000mL三口烧瓶 上海长城玻璃仪器厂；W20 DZM.n型搅拌机 广州IKA试验仪器厂；R5028型旋转蒸发器 上海申生科技有限公司；TC-15套式恒温器 浙江新华医疗器械厂；5973N-6890N GC-MS 美国Agilent公司。

1.3 方法

1.3.1 热反应试验

在1000mL的三口烧瓶中加入一定配比量的氨基酸、还原糖、丙二醇、乙醇、去离子水等反应物，在中间的瓶口插入搅拌棒，将三口烧瓶放入恒温器的电热套中，然后固定于铁架台上。另两个瓶口分别装上回流管和温度计。仪器装置安装固定后，接通电源，打开搅拌机电源和回流管上的水流，将调压器调节至最大电压(250V)，加热至所需温度后调节变压器，使温度保持恒定。待反应完毕后，迅速冷却倒入塑料瓶中，封口后放入冰箱保存。

1.3.2 风味成分提取

移取10mL咖啡香精样品，用50mL正己烷分两次萃取，合并萃取液，用无水硫酸钠干燥。然后用旋转蒸发器浓缩至1mL，低温保存供气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析用。

1.3.3 单因素试验

Maillard反应要受诸多因素的影响，主要包括反应体系的pH值、加热温度、反应时间、反应物体积分数等。改变这些参数对反应产物的种类及风味影响很大。所以，分别进行时间、温度、pH值、氨基酸和还原糖配比的单因素试验，以了解各因素对反应结果的影响。根据文献报道[7-9]，初步确定反应的基本条件为：反应温度110℃、反应时间4h、氨基酸5g、还原糖添加量4g、丙二醇100g、95%乙醇10g、去离子水40g、pH6~8，在单因素试验时分别变换相应的反应条件。

1.3.4 正交试验

表1 Maillard反应正交试验因素水平表

Table 1 Factors and their coded levels in orthogonal array design

水平	因素			
	A 葡萄糖:果糖(g/g)	B 精氨酸:赖氨酸(g/g)	C 温度/℃	D 时间/h
1	1:1.5	2.5:1	105	3.5
2	1:1	2:1	110	4
3	1.5:1	1.5:1	115	4.5

为了得到更为合适的咖啡香精制备反应条件，以还原糖(葡萄糖和果糖)配比、氨基酸(精氨酸和赖氨酸)配比、反应温度、反应时间4因素进行 $L_9(3^4)$ 正交试验，以产物的感官评分为指标进行分析，还原糖、氨基酸总添加量及丙二醇、乙醇、去离子水用量与单因素相同。试验因素水平见表1。

1.3.5 产物的感官评定^[10-11]

简单描述法：在各单因素试验中，由5名评价员组成感官评价组，对所得产物不经稀释直接进行香气和色泽定性描述(表2)，评价员完成评价后，根据每一描述性词汇的使用频数得出评价结果。

表2 产物色泽和香气的描述

Table 2 Description of flavor and color of reaction products

评价项目	参考词汇
香气	很弱/微弱/正常/适宜/过重，伴随那些气味
色泽	浅黄/浅棕/棕/深棕，是否可接受

评分检验法：在正交试验中，由5名评价员对所得的各样品不经稀释直接根据喜好度进行评分，评价时首先看成品，观其色泽、形态，然后再看香味、口感等。总评定结果用分值表示对该反应产物的评定。评分标准见表3。

表3 喜好度试验评价表

Table 3 Quality grading of reaction products based on sensory score

评价等级	很不喜欢	不喜欢	不太喜欢	一般喜欢	稍喜欢	喜欢	很喜欢
分值	-3	-2	-1	0	1	2	3

1.3.6 GC-MS分析产物成分

GC-MS对所得咖啡香精的正己烷提取物成分组成进行分析。色谱条件：J&W DB-5石英毛细柱(60m×0.25mm, 0.25μm)；进样口温度270℃；升温程序：起始温度57℃，保持3min，以4℃/min升温至260℃，保持10min；载气(He)流速1mL/min；分流比5:1；进样量1μL。质谱条件：EI源电子轰击能量70eV；离子源温度230℃；质量扫描范围29~500u；传输线温度200℃；自动进样。

2 结果与分析

2.1 单因素试验对反应产物香气与色泽的影响

2.1.1 pH值对反应产物香气与色泽的影响

分别采用pH4.0、5.0、6.0、7.0、8.0，其他因素采用基本反应条件进行单因素试验，结果见表4。

氨基酸是一类两性物质，在酸性条件下，Maillard反应受到抑制，反应难以进行下去，从而得不到大量

的芳香类物质；在碱性介质中，氨基酸呈阴离子态，此时氨基酸的反应性加强，反应速度加快；当 pH 值大于 8 的时候，反应速度过快不易控制。由表 4 可见，当 pH 值小于 6 时，产物的咖啡香味不明显，而 pH6~8 时，产物的香气和色泽并无太大差异，表明在此范围内，pH 值对产物的影响不大，因此只需将 pH 值范围控制在 6~8 之间即可。

表 4 pH 值对反应产物香气与色泽的影响
Table 4 Effect of pH on flavor and color of reaction products

pH	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
香气	香气很弱 (频数5)	香气微弱 (频数4)	香气正常 (频数3)	香气正常 (频数5)	香气正常 (频数4)
色泽	浅棕色	棕色	棕色	棕色	棕色

2.1.2 反应温度对产物香气与色泽的影响

分别采用 100、105、110、115、120℃ 的温度，其他因素采用基本反应条件进行单因素试验，结果见表 5。

表 5 反应温度对产物香气与色泽的影响
Table 5 Effect of temperature on flavor and color of reaction products

反应温度/℃	100	105	110	115	120
香气	香气很弱 (频数5)	香气微弱 (频数3)	香气适宜 (频数4)	香气正常，伴有 微弱酱香味(频数3)	香气过重，伴有 焦香味(频数4)
色泽	浅黄	浅棕	棕色，与咖啡色泽接近	深棕色	焦糖色，过深

温度是影响 Maillard 反应的一个重要因素，在温度较高的条件下有利于 Maillard 反应生成一些低分子质量的杂环化合物。温度较高时，Strecker 降解经常伴随 Maillard 反应进行，这也是食品风味物形成的一个重要反应。但温度过高，最终会导致产物中杂味成分增多，并可能伴有焦臭味，温度很高的时候还会导致炭化；温度过低，又使最终产物中特征香味不明显。由表 5 可知，100℃ 时几乎不能产生香气，随着温度的升高，到达 120℃ 时，又会产生焦糖刺激味，而 110℃ 时，产物的香味和色泽均良好，咖啡香味比较突出，故选取反应温度为 110℃。

2.1.3 反应时间对产物香气与色泽的影响

分别以 2、3、4、5 h 进行热反应，其他因素采用基本反应条件进行单因素试验，结果见表 6。

表 6 反应时间对产物香气与色泽的影响
Table 6 Effect of reaction time on flavor and color of reaction products

反应时间/h	2	3	4	5
香气	香气很弱 (频数5)	香气微弱 (频数4)	香气适宜 (频数5)	香气过重，伴有 焦香味(频数4)
色泽	浅棕	浅棕	棕色偏深	深棕

在相同的反应温度下，不同的反应时间得到的产物是有差异的，时间过短，反应不完全，时间过长，会产生较多的杂味物质。从表 6 可以看出，随着反应时间的延长，产物的香气也变得越加浓郁，色泽越加明显，但时间延长到一定程度后，会出现焦烤等异味，色泽也会加深。而加热 4h 产物香味最突出，故选取最佳反应时间为 4h。

2.1.4 葡萄糖与果糖配比的确定

果糖与葡萄糖作为在热反应中经常使用的还原糖，其配比不同，产物的风味不同。分别以葡萄糖与果糖以 1:2、1:1.5、1:1、1.5:1、2:1 五个不同的配比进行反应，其他因素采用基本反应条件，结果见表 7。

在 Maillard 反应中，由于不同的还原糖、氨基酸等原料，在不同的反应条件下得到不同的风味物。在此，选取葡萄糖和果糖这两种还原糖进行试验。由表 7 可知，当葡萄糖:果糖 = 1:1 时，产物的风味与色泽最佳。

2.1.5 精氨酸与赖氨酸配比的确定

氨基酸的配比对产物风味的影响非常重要。分别采用精氨酸与赖氨酸以 4:1、2:1、1:1、1:2、1:4 五个不同的比例进行反应，其他因素采用基本反应条件进行，结果见表 8。

表 8 精氨酸与赖氨酸比对产物香气和色泽的影响
Table 8 Effect of arginine/lysine ratio on flavor and color of reaction products

精氨酸:赖氨酸/(g/g)	4:1	2:1	1:1	1:2	1:4
香气	香气过重，伴有焦香气(频数5)	香气适宜 (频数4)	香气正常 (频数3)	香气正常 (频数4)	香气微弱 (频数4)
色泽	深棕	棕色，可接受	棕色，可接受	棕色，可接受	棕色，可接受

表 7 葡萄糖与果糖比对产物香气和色泽的影响
Table 7 Effect of glucose/fructose ratio on flavor and color of reaction products

葡萄糖:果糖(g/g)	1:3	1:2	1:1	2:1	3:1
香气	香气很弱，伴有微弱的酱香味(频数5)	香气微弱，伴有微弱爆米花味(频数3)	香气正常 (频数5)	香气正常，伴有微弱焦香味(频数4)	香气过重，有焦香味(频数5)
色泽	浅棕	棕色	棕色	棕色	棕色，略深

精氨酸、赖氨酸、丙氨酸、亮氨酸、半胱氨酸、天门冬氨酸等氨基酸在 100℃ 以上时对类似咖啡的焦香味有不同大小的贡献作用^[4], 在此选用精氨酸和赖氨酸进行组配。由表 8 可知, 当精氨酸:赖氨酸为 2:1 时, 香气最适宜, 风味较好。

2.2 咖啡香精热反应制备工艺正交试验

表 9 正交试验设计方案与结果

Table 9 Orthogonal array design and experimental results

试验号	A	B	C	D	感官评分
1	1	1	1	1	-3
2	1	2	2	2	2
3	1	3	3	3	5
4	2	1	2	3	2
5	2	2	3	1	-1
6	2	3	1	2	-2
7	3	1	3	2	4
8	3	2	1	3	0
9	3	3	2	1	-1
K ₁	4	3	-5	-5	
K ₂	-1	1	3	4	
K ₃	3	2	8	7	
k ₁	1.3	1	-1.7	-1.7	
k ₂	-0.3	0.3	1.0	1.3	
k ₃	1.0	0.7	2.7	2.3	
R	1.6	0.7	4.4	4.0	

根据单因素试验结果, pH6~8 的范围对试验结果影响不大, 所以, 在正交试验时控制 pH 值在这一范围, 不再考虑其对试验的影响。以还原糖和氨基酸的配比、反应温度、反应时间为考察因素, 以感官评分为考察指标, 进行 L₉(3⁴) 正交试验, 结果见表 9。

表 9 表明, 试验中 4 种因素对产物颜色和香气影响主次顺序为: 反应温度>反应时间>葡萄糖和果糖配比>精氨酸和赖氨酸配比。从表 9 还可看出, 在氨基酸总添加量 5g、还原糖总添加量 4g、丙二醇 100g、95% 乙醇 10g、去离子水 40g、pH6~8 时, 4 个因素较优的水平组合是 A₁B₁C₃D₃, 即在葡萄糖和果糖配比为 1:1.5、精氨酸和赖氨酸配比为 2.5:1、反应温度 115℃、反应时间 4.5h 时, 所得咖啡香精的颜色和香气最好。

2.3 GC-MS 分析咖啡香精中的致香成分

对正交试验优化后的工艺条件下所得咖啡香精的正己烷提取物, 经 GC-MS 检测, 利用 NIST 谱库对质谱图进行检索, 并对鉴定出的各物质进行峰面积归一化法定量分析, 其成分检测结果见表 10。

从表 10 可以得到, 经 GC-MS 分析后, 共检测出 25 种挥发性风味化合物, 主要是吡嗪类化合物(5.57%)、醛类(0.59%)、酮类(4.6%), 含量最多的成分为麦芽酚, 占 44.54%, 与文献报道^[12]基本相符, 其中杂环类化合物主要是吡嗪类。吡嗪类对于烤香、焦糖香、咖啡香、

表 10 GC-MS 分析咖啡香精中的成分

Table 10 Volatile compounds in coffee flavor obtained under optimal reaction conditions identified by GC-MS

序号	风味物	保留时间/min	峰面积/%
1	乙醛二乙缩醛(acetaldehyde diethyl acetal)	5.278	0.0868
2	吡嗪(pyrazine)	10.470	0.1433
3	2-乙基吡嗪(2-ethyl pyrazine)	13.852	0.1787
4	2,5-二甲基吡嗪(2,5-dimethyl pyrazine)	13.497	1.3318
5	2,6-二甲基吡嗪(2,6-dimethyl pyrazine)	13.672	1.3921
6	2,3-二甲基吡嗪(2,3-dimethyl pyrazine)	14.191	0.7866
7	2-乙基-5(6)-甲基吡嗪(2-ethyl-5(6)-methyl pyrazine)	15.352	0.3410
8	2-乙基-3-甲基吡嗪(2-ethyl-3-methyl pyrazine)	15.533	0.0834
9	2,3,5-三甲基吡嗪(2,3,5-trimethyl pyrazine)	15.893	0.7604
10	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪(3-ethyl 2,5-dimethyl pyrazine)	17.114	0.1587
11	5-乙基-2,3-二甲基吡嗪(5-ethyl 2,3-dimethyl pyrazine)	17.599	0.0869
12	2-乙酰基呋喃(2-acetyl furan)	18.851	0.3117
13	5-甲基糠醛(5-methyl furfural)	18.725	0.0570
14	5-甲基-6,7-二氢环戊吡嗪(5-methyl-6,7-dihydro-cyclopenta pyrazine)	22.243	0.1685
15	2-乙酰基吡嗪(2-acetyl pyrazine)	22.400	0.1426
16	糠醇(furfuryl alcohol)	23.145	8.4691
17	甲基苯基戊烯醛(methyl phenyl pentenal)	24.282	0.2530
18	5,6,7,8-四氢喹啉(5,6,7,8-tetrahydro-quinoxaline)	25.512	0.1033
19	甲基环戊烯醇酮(methylcyclopentadienyl pregnenolone)	27.731	2.3065
20	乙基环戊烯醇酮(pregnenolone ethyl cyclopentanone)	28.913	0.0690
21	麦芽酚(maltol)	31.309	44.5428
22	2-乙酰基吡咯(2-acetyl pyrrole)	31.380	4.3586
23	呋喃酮(furanone)	32.852	2.2289
24	硫醇(thiol)	39.260	0.2032
25	羟基甲基糠醛(hydroxymethyl furfural)	43.346	0.1920

坚果香风味有很大的贡献,醛类、酚类、糠醇等物质也具有咖啡香的特征^[13]。

热反应制备的咖啡香精,咖啡香味是由多种化合物混合而成,其组成的许多化合物都是在糖和氨基酸的 Maillard 反应中生成的。主要有吡嗪、吡咯、呋喃、酚等及其它们的取代物,这类物质分子质量小、沸点较低、有致香作用。建立 GC-MS 技术分析咖啡香精,确定其致香组分,对咖啡香精的开发具有重要意义。

3 结 论

以葡萄糖、果糖、精氨酸、赖氨酸等为热反应的主要原料,经热反应使反应物发生 Maillard 反应以及伴随 Strecker 分解,产生具有类似咖啡风味的产物——咖啡香精。在氨基酸总添加量 5g、还原糖总添加量 4g、丙二醇 100g、95% 乙醇 10g、去离子水 40g、pH6~8 时,最终确定反应的优化工艺条件为:葡萄糖和果糖配比为 1:1.5、精氨酸和赖氨酸配比为 2.5:1、反应温度 115℃、反应时间 4.5h 时,能得到风味较为理想纯正的咖啡香精。

通过 GC-MS 分析,鉴定出所得咖啡香精含有糠醇、麦芽酚、二甲基吡嗪、乙酰基吡咯、硫醇等 25 种化合物,这些物质对咖啡风味的形成有很大贡献。在所得产物中,吡嗪类占 5.57%,醛类占 0.59%,酮类占 4.6%,含量最多的成分为麦芽酚占 44.54%,而且在天

然咖啡中也含有大量的麦芽酚。试验结果说明了热反应模型体系组成及其反应条件用于指导生产具有可行性。

参考文献:

- [1] 刘玉平,孙宝国.我国食用香料香精的基本状况与发展趋势[J].食品科学,2004,25(10):373-375.
- [2] 孙宝国.食用调香术[M].2版.北京:化学工业出版社,2010:82-354.
- [3] 雷涛,刘丽敏,郑毅男.美拉德反应产物制备研究[J].牡丹江医学院学报,2007,28(1):65-67.
- [4] 尤新.氨基酸和糖类的美拉德反应:开发新型风味剂和食品抗氧化剂的新途径[J].食品工业科技,2004,25(7):138-139.
- [5] 吴跃,罗昌荣,陈正行.葡萄糖和果糖对反应型可可香料致香成分形成的影响[J].食品工业科技,2007,28(1):185-188.
- [6] 余华.仿咖啡风味产品的研究[J].广州食品工业科技,2000,16(4):39-40.
- [7] 张彩菊,张慇.利用美拉德反应制备鱼味香料[J].无锡轻工大学学报,2004,23(5):11-15.
- [8] 郭俊成,程晓蕾.美拉德增香调味料研究及其应用[J].中国调味品,1995(6):2-3.
- [9] WU Shaoxiong, van BOEKE M, MARTINS S, et al. Effects of temperatures on maillard reactions[J]. Food Science, 2005, 26(7): 63-66.
- [10] 朱红,黄一贞,张弘.食品感官入门[M].北京:中国轻工业出版社,1993:138-140.
- [11] 张水华,徐树来,王永华.食品感官分析与试验[M].北京:化学工业出版社,2006:56-119.
- [12] 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].分析试验室,2006,25(8):119-122.
- [13] 王德峰.食用香料制备与应用手册[M].北京:中国轻工业出版社,2000.