



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107920546 A

(43)申请公布日 2018.04.17

(21)申请号 201680046648.X

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所
11247

(22)申请日 2016.09.02

代理人 张朔 黄革生

(30)优先权数据

15183907.3 2015.09.04 EP

(51)Int.Cl.

A23F 5/10(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A23F 5/24(2006.01)

2018.02.08

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2016/070689 2016.09.02

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/037216 EN 2017.03.09

(71)申请人 雀巢产品技术援助有限公司

地址 瑞士沃韦

(72)发明人 C·雷 S·帕尔泽

R·贝尔-赖利德 E·阿南塔

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

制备咖啡提取物的方法

(57)摘要

本发明涉及制备咖啡提取物的方法,其中使咖啡豆与纤维素酶和木聚糖酶接触。

1. 制备咖啡提取物的方法,所述方法包括以下步骤:
 - a) 使咖啡豆与包含纤维素酶和木聚糖酶的酶制品接触;以及
 - b) 用水性液体提取所述咖啡豆以制备咖啡提取物。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤a)中的所述酶制品还包含 β -甘露聚糖酶。
3. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中步骤a)中的所述酶制品还包含 β -葡糖苷酶。
4. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述咖啡豆为烘焙咖啡豆。
5. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述咖啡豆为研磨咖啡豆。
6. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述咖啡豆在步骤a)之前已经历用水性液体进行提取。
7. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中在步骤b)之后干燥所述咖啡提取物。
8. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述酶制品为与所述咖啡豆接触的水性溶液的形式。
9. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中使所述咖啡在与酶制品的所述接触之前和/或期间与水接触。
10. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中在用水性液体提取所述咖啡豆以制备咖啡提取物之前从所述咖啡豆中回收咖啡香味剂,并且在提取之后将所述咖啡香味剂添加回所述咖啡提取物中。
11. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中在步骤b)中在介于60°C和150°C之间的温度下提取所述咖啡豆。

制备咖啡提取物的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及制备咖啡提取物的方法,其中使咖啡豆与酶接触。

背景技术

[0002] 在咖啡豆的工业提取过程(例如,用于制备可溶或速溶咖啡产品)中常常使用高温,以实现咖啡豆中碳水化合物的水解和增溶。碳水化合物的增溶对于达到期望的提取过程产率十分重要,并且碳水化合物可有助于在储存过程中稳定咖啡提取物的复合物。用于实现碳水化合物水解的高温可能导致所需化合物如香味化合物的降解和/或损失,并且在一些情况下可能导致在咖啡提取物中形成不期望的复合物。已经提出使用酶来水解碳水化合物,以尽力避免高温的不利影响。例如,EP 1 745 702公开了制备咖啡提取物的方法,其中将经过烘焙并且研磨的咖啡与水 and 甘露聚糖酶混合,或者将甘露聚糖酶与纤维素酶的混合物添加到经过烘焙并且研磨的咖啡与水的混合物中。酶促水解的用途尚未得到广泛应用,并且仍然需要找到在温和条件下从咖啡中提取碳水化合物的改进方法。此外,常规咖啡提取的残留物(例如,在生产可溶咖啡时,所谓的咖啡渣,即当用水提取经过烘焙并且研磨的咖啡豆时留下的咖啡颗粒)含有不能用常规方法完全提取的碳水化合物。这些碳水化合物可用作食物和饮料产品中的成分,例如作为甜味剂、膨松剂、质构剂等,因此需要用于提取和稳定这些碳水化合物的方法。

发明内容

[0003] 本发明人现已发现,使用酶的特定组合可提高碳水化合物的水解程度和咖啡提取的产率。因此,本发明涉及制备咖啡提取物的方法,该方法包括以下步骤:a)使咖啡豆与包含纤维素酶和木聚糖酶的酶制品接触;以及b)用水性液体提取所述咖啡豆以制备咖啡提取物。

具体实施方式

[0004] 定义

[0005] 所谓纤维素酶是指具有酶类EC 3.2.1.4的酶活性的酶,其催化纤维素、地衣多糖和谷类 β -D-葡聚糖中的(1 \rightarrow 4)- β -D-糖苷键的内水解,并且还可水解也包含1,3-键的 β -D-葡聚糖中的1,4-键。纤维素酶可仅具有纤维素酶活性,或可另外具有一种或多种副活性,即,除纤维素酶活性之外的其它酶活性。

[0006] 所谓木聚糖酶是指具有酶类EC 3.2.1.8的酶活性的酶,也称为内切-1,4- β -木聚糖酶,其催化木聚糖中的(1 \rightarrow 4)- β -D-木糖苷键的内水解。木聚糖酶可仅具有木聚糖酶活性,或可另外具有一种或多种副活性,即,除木聚糖酶活性之外的其它酶活性。

[0007] 所谓 β -甘露聚糖酶是指具有酶类EC 3.2.1.78的酶活性的酶,也称为甘露聚糖内切-1,4- β -甘露糖苷酶,其催化甘露聚糖、半乳甘露聚糖和葡甘露聚糖中的(1 \rightarrow 4)- β -D-甘露糖苷键的随机水解。 β -甘露聚糖酶可仅具有 β -甘露聚糖酶活性,或可另外具有一种或多

种副活性,即,除 β -甘露聚糖酶活性之外的其它酶活性。

[0008] 所谓 β -葡糖苷酶是指具有酶类EC 3.2.1.21的酶活性的酶,也称为 β -D-葡糖苷葡糖水解酶或纤维二糖酶,其通过释放 β -D-葡萄糖来催化末端非还原性 β -D-葡糖基残基的水解。 β -葡糖苷酶可仅具有 β -葡糖苷酶活性,或可另外具有一种或多种副活性,即,除 β -葡糖苷酶活性之外的其它酶活性。

[0009] EC(酶委员会)编号是指2014年12月16日生效的国际生物化学和分子生物学联合会命名委员会给出的酶活性和命名的定义。

[0010] 所谓“酶制品”是指包含一种或多种酶并且具有一种或多种酶活性的组合物。酶制品可例如为纯化酶的混合物,或它可为包含一种或多种酶的粗制品,例如以微生物细胞提取物的形式。

[0011] 本发明的方法

[0012] 根据本发明的方法,使咖啡豆与包含纤维素酶和木聚糖酶的酶制品接触。咖啡豆是咖啡植物(咖啡属(*Coffea*))的种子,并且根据本发明的咖啡豆可来源于任何种类的咖啡,例如阿拉比卡咖啡(小果咖啡*Coffea arabica*)或罗布斯塔咖啡(中果咖啡(*Coffea canephora*))。咖啡豆可为未加工的(所谓的生咖啡豆)或经过烘焙的。所谓烘焙咖啡豆是指经过热处理以赋予烘焙咖啡的典型风味、香味和颜色的咖啡豆。咖啡豆可以任何合适的方式处理以获得本发明的咖啡提取物的期望特性和/或以任何合适的方式处理以促进用水性液体进行的酶反应和/或咖啡豆提取。在一个优选实施方案中,咖啡豆为研磨咖啡豆。可使用任何合适的研磨方法制备研磨咖啡豆,此类方法在咖啡加工领域是众所周知的。咖啡豆可在与酶制品接触之前和/或之后被研磨。可使咖啡豆在与酶制品接触之前和/或期间与水接触,例如,可使咖啡豆在与酶制品接触之前和/或期间分散在水性液体中。本发明的方法中所用的咖啡豆可以在与酶制品接触之前已经历提取过程以去除可溶性化合物。在本发明的一个优选实施方案中,咖啡豆在与酶制品接触之前已经历用水性液体进行提取。例如,咖啡豆可为通过传统提取过程(例如,用于制备可溶咖啡)留下的所谓咖啡渣。如果使用咖啡渣,则可使用本发明的方法从第一次提取期间未提取出的咖啡渣中提取额外的碳水化合物。提取的化合物可用于不同目的,例如,如果咖啡渣已被提取以制备可溶咖啡产品,则碳水化合物可用于制备该可溶咖啡产品,例如通过将碳水化合物添加到在与酶制品接触之前已获得的提取物中进行制备。碳水化合物也可用于许多其它用途,例如,作为食物和饮料产品中的成分如甜味剂或质构剂,或者作为其它产品中的成分。以这种方式,本发明的方法可例如为利用来自常规提取过程的咖啡渣的方法。根据碳水化合物的预期用途,可将获得的碳水化合物进一步纯化和/或分馏以获得含有特定碳水化合物组合物的制品。

[0013] 用于在本发明的方法中接触咖啡豆的酶制品包含纤维素酶和木聚糖酶。另外,酶制品可包含其它酶活性。在一个优选实施方案中,酶制品还包含 β -甘露聚糖酶。在另一个优选实施方案中,酶制品包含 β -葡糖苷酶。在一个具体实施方案中,酶制品包含纤维素酶、木聚糖酶和 β -甘露聚糖酶;在另一个具体实施方案中,酶制品包含纤维素酶、木聚糖酶和 β -葡糖苷酶;在又一个具体实施方案中,酶制品包含纤维素酶、木聚糖酶、 β -甘露聚糖酶和 β -葡糖苷酶。

[0014] 酶制品可来源于任何合适的来源。它可例如为具有所需酶活性的微生物细胞提取物的形式,或它可例如为两种或更多种不同微生物细胞的提取物的混合物的形式。细胞提

取物可已经历纯化以去除不期望的组分(例如,不期望的酶活性)和/或增大所需酶的浓度。酶制品也可作为纯化酶的混合物,或者它可为一种或多种细胞提取物与一种或多种纯化酶的混合物。

[0015] 合适的酶可例如来自微生物来源(细菌、真菌、酵母),例如来自曲霉属(*Aspergillus* sp.)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、木霉属(*Trichoderma* sp.)、纤维单胞菌属(*Cellulomonas* Sp.)、梭菌属(*Clostridium* sp.)、青霉属(*Penicillium* sp.)、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)、酵母属(*Saccharomyces* sp.)、茄属(*Solanum* sp.)、弧菌属(*Vibrio* sp.)、链霉菌属(*Streptomyces* sp.)、乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)和/或根霉属(*Rhizopus* sp.);来自动物来源,例如来自海洋无脊椎动物(诸如扇贝)、白蚁、昆虫、小龙虾、原生动物、蜗牛和/或甲壳纲动物;和/或来自植物来源,例如来自海藻、橄榄和/或杏仁。

[0016] 合适的商业纤维素酶为例如全部得自英国加的夫Biocatalysts公司(Biocatalysts,Cardiff,UK)的纤维素酶13L、Depol 40L、Depol 793L;全部得自丹麦巴格斯韦德的诺维信公司(Novozymes A/S,Bagsvaerd,Denmark)的Cellic CTec2、HTech2和Carezyme 1000L。

[0017] 合适的商业木聚糖酶为例如均得自英国加的夫Biocatalysts公司(Biocatalysts,Cardiff,UK)的Depol 33MDP、Glucanase 5XL,以及得自丹麦巴格斯韦德的诺维信公司(Novozymes A/S,Bagsvaerd,Denmark)的Panzea。

[0018] 合适的商业 β -甘露聚糖酶为例如得自丹麦巴格斯韦德的诺维信公司(Novozymes A/S,Bagsvaerd,Denmark)的Mannaway-S3。

[0019] 合适的商业 β -葡糖苷酶为例如均得自英国加的夫Biocatalysts公司(Biocatalysts,Cardiff,UK)的Depol 392L、Depol 670L,以及得自丹麦巴格斯韦德的诺维信公司(Novozymes A/S,Bagsvaerd,Denmark)的Viscozyme L。

[0020] 使咖啡豆与酶制品接触可以任何合适的方式进行。酶制品优选地为与咖啡豆接触的水性溶液的形式,例如,通过将溶液喷洒到咖啡豆上和/或将咖啡豆浸入溶液中。溶液中酶的浓度(溶液的酶活性)、接触持续时间和接触条件(诸如接触期间的温度、酶溶液的量 and 酶溶液的pH)应以咖啡豆中的碳水化合物能够获得期望程度的酶促转化的方式进行选择。技术人员可使用常规方法和/或利用关于酶及其最佳活性条件的知识来选择和优化此类条件。

[0021] 咖啡豆用水性液体进行提取以制备咖啡提取物。用水性液体提取咖啡豆的方法在本领域是众所周知的。提取可在使咖啡豆与酶制品接触期间和/或之后进行。例如,与酶的接触可在提取之前单独进行。在这种情况下,咖啡豆可经过冲洗以在提取之前去除酶和/或可经过处理例如进行加热以使酶失活。在另一个实施方案中,用于使咖啡豆与酶接触的酶溶液也可用作提取液。如果需要,当达到期望的酶促转化程度时,可使酶失活,例如通过将提取温度升高到使酶变性的温度。咖啡豆的提取可在任何合适的温度下进行。本发明方法的一个优点是可在比提取过程通常使用的温度更低的温度下进行酶促转化后提取碳水化合物,以实现例如在常用温度为120-180°C的可溶咖啡常规生产过程中从咖啡豆中水解和提取碳水化合物。在本发明的一个优选实施方案中,咖啡豆在介于60和150°C之间、更优选地介于70和140°C之间、最优选地介于80和120°C之间的温度下提取。在另一个优选实施方案中,在提取咖啡豆的过程中,温度不超过140°C,更优选地为120°C。

[0022] 在用水性液体提取咖啡豆以制备咖啡提取物之前从所述咖啡豆中回收咖啡香味剂,并且在提取之后将咖啡香味剂添加回咖啡提取物中。在可溶咖啡制备领域中众所周知的是,在提取咖啡豆之前从咖啡豆中取出香味剂能避免提取步骤中的香味损失。然后将该香味剂添加回咖啡提取物中,就粉末状可溶咖啡产品而言,通常在将液体提取物干燥成粉末之前添加。

[0023] 可干燥咖啡提取物以制备干燥的咖啡提取物,例如呈粉末形式。干燥可通过任何合适的方法进行,例如通过喷雾干燥或冷冻干燥。干燥的咖啡提取物可为速溶咖啡产品的形式,其可用于通过将速溶咖啡产品溶解在例如热水或牛奶中来制备咖啡饮料。干燥的咖啡提取物可与可用于制备速溶咖啡饮料粉末的其它成分(例如,甜味剂如糖、奶精、奶粉、香味剂等)混合。咖啡提取物也可以液体形式使用,例如用于所谓的RTD(即饮型)咖啡饮料。

[0024] 用于制备咖啡提取物的本发明方法的一个优选实施方案包括以下步骤:

[0025] a) 使经过烘焙并且研磨的咖啡豆与包含纤维素酶和木聚糖酶的酶制品接触;以及

[0026] b) 用水性液体提取所述咖啡豆以制备咖啡提取物。

[0027] 用于制备咖啡提取物的本发明方法的另一个优选实施方案包括以下步骤:

[0028] a) 使经过烘焙并且研磨的咖啡豆与包含纤维素酶、木聚糖酶、 β -甘露聚糖酶和 β -葡糖苷酶的酶制品接触;以及

[0029] b) 用水性液体提取所述咖啡豆以制备咖啡提取物。

[0030] 实施例

[0031] 实施例1:用不同酶水解SGC

[0032] 将已经历用于生产可溶咖啡的常规提取过程的经过烘焙并且研磨的咖啡豆颗粒形式的咖啡豆通过不同的酶和酶组合经历酶促水解。

[0033] 使用溶于50mM马来酸盐缓冲液(pH 5.0或pH 7.0)中的1%SGC和50 μ g/mL酶,在30 $^{\circ}$ C或50 $^{\circ}$ C下水解15分钟至24小时。

[0034] 对所产生的糖进行的HPLC分析

[0035] 为建立HPLC分析,使用Agilent Technology 1260Infinity Quaternary LC系统检测不同标样,该系统配备以下部件:1260ALS进样器,1260四元泵,1260RID检测器。对不同的色谱柱(Hi-Plex Na和Hi-Plex H)进行测试以确定最佳分离结果。使用水作为洗脱液,流速为1分钟0.5mL。

[0036] 测定下列标样的保留时间(以分钟为单位):葡萄糖:9.376,纤维二糖:7.891,木糖:9.978,木二糖:8.308,甘露糖:9.87,半乳糖:9.894,阿拉伯糖:10.706。

[0037] 使用以下酶:

[0038] 纤维素酶(Cell):来自里氏木霉(*Trichoderma reesei*)的Celluclast CL 1.5L(丹麦巴格斯韦德的诺维信公司(Novozymes, Bagsværd, Denmark))

[0039] 甘露聚糖酶(Man):Mannaway-S3(丹麦巴格斯韦德的诺维信公司(Novozymes, Bagsværd, Denmark))

[0040] 木聚糖酶(Xyn):来自黑曲霉(*Aspergillus niger*)的内切1-4 β -木聚糖酶(Megazyme公司)

[0041] β -葡糖苷酶(Bgl)(德国汉堡大学微生物技术研究所(Institute of Technical Microbiology, University of Hamburg, Germany))。

[0042] 相对活性值将在特定条件下的平行实验中测得的光密度彼此直接关联。因此,最高吸光度值($\lambda=546\text{nm}$)被设定为等于100%活性,由此其它测量值相应地关联。

[0043] 反应试管中酶的相对活性(单位/ μL)被定义为(反应试管中的)总酶单位除以所添加提取物的体积。

[0044] 假定在最佳条件下酶的活性为100%,测定相对活性。酶和各种组合的相对活性示于表1中。

[0045] 表1.不同酶和酶组合对先前已用水提取的经过烘焙并且研磨的咖啡豆的相对活性。

[0046]

酶	相对活性(%)
Cell	58
Man	3
Xyn	73
Cell+Bgl	60
Cell+Man	53
Cell+Xyn	95
Cell+Bgl+Man+Xyn	99