

# 咖啡制备工艺对胶体颗粒形成及抗氧化特性的影响

高观祯<sup>1,2</sup> 饶平凡<sup>1,2</sup> 徐 瑶<sup>2</sup> 周建武<sup>1,2</sup> 山云辉<sup>3</sup>

(1. 福建技术师范学院食品与生物工程学院, 福建 福清 350300; 2. 中科院—浙江工商大学联合食品与营养研究中心, 浙江 杭州 310035; 3. 德宏黑柔咖啡有限公司, 云南 芒市 678400)

**摘要:** [目的] 探究研磨粒径和萃取温度对咖啡液化学成分、胶体特性及胶体颗粒抗氧化活性的影响, 揭示咖啡胶体颗粒的形成与性质。[方法] 采用完整豆、中等研磨 (0.9 mm)、细研磨 (0.3 mm) 3 种咖啡豆, 通过热冲 (100 °C, 3 min) 和冷泡 (4 °C, 24 h) 制备咖啡液, 测定总固形物、总糖、蛋白质、总多酚和油脂含量。利用纳米粒度电位仪表征胶体性质, 通过标称截留相对分子质量为  $1 \times 10^5$  的超滤膜分离滤过液 (真溶液相) 和截留液 (胶体相), 分别检测其化学成分及抗氧化活性。采用 ORAC、ABTS、DPPH 法评估胞外抗氧化性, CAA 法评估胞内抗氧化性。[结果] 细研磨 (0.3 mm) 结合热冲可显著提升总固形物、多酚及油脂溶出率 ( $P < 0.05$ ), 并促进胶体颗粒形成 (热冲的光散强度为 115 501.8 kcps, 远超冷泡的 1 250.2 kcps)。超滤显示, 脂质等成分富集于胶体颗粒中。真溶液相 (滤过液) 主导胞外抗氧化活性, 而胶体颗粒 (截留液) 在 CAA 测试中展现显著生物学活性。[结论] 高温萃取与细研磨可通过促进成分溶出及自组装显著增强胶体颗粒形成, 胶体颗粒是咖啡胞内抗氧化活性的关键物质基础。

**关键词:** 咖啡; 胶体颗粒; 研磨粒径; 萃取温度; 胞内抗氧化活性

## Effects of coffee preparation processes on colloidal particle formation and antioxidant properties

GAO Guanzhen<sup>1,2</sup> RAO Pingfan<sup>1,2</sup> XU Yao<sup>2</sup> ZHOU Jianwu<sup>1,2</sup> SHAN Yunhui<sup>3</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Fujian Polytechnic Normal University, Fuqing, Fujian 350300, China; 2. Shanghai Institutes for Biological Sciences Chinese Academy of Sciences-Joint Centre for Food and Nutrition Research, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310035, China; 3. Dehong Blacksoft Coffee Co., Ltd., Mangshi, Yunnan 678400, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the effects of grinding size and extraction temperature on the chemical composition, colloidal properties, and antioxidant activity of coffee colloidal particles, and to elucidate their formation and characteristics. [Methods] Coffee infusions were prepared from whole beans, medium-ground (0.9 mm), and fine-ground (0.3 mm) coffee beans using hot brewing (100 °C, 3 min) and cold brewing (4 °C, 24 h). The content of total solids, total sugars, proteins, total polyphenols, and lipids were determined. The colloidal properties were characterized using a nanoparticle size and zeta potential analyzer. The infusions were separated into a filtrate (true solution phase) and a retentate (colloidal phase) using an ultrafiltration membrane with a nominal molecular weight cut-off of  $1 \times 10^5$ . The chemical composition and antioxidant activity of each phase were analyzed separately. Extracellular antioxidant activity was evaluated using ORAC, ABTS, and DPPH assays, while intracellular antioxidant activity was assessed using the CAA assay. [Results] Fine grinding

**基金项目:** 云南省院士专家工作站项目 (编号: 202305AF150013); 福建省高校产学研联合创新科技计划项目 (编号: 2023N5014); 福建省中青年教育科研项目 (科技类) (编号: JAT231074)

**通信作者:** 饶平凡 (1957—), 男, 浙江工商大学教授, 博士。E-mail: pingfan.rao@gmail.com

**收稿日期:** 2025-06-14 **改回日期:** 2025-09-01

**引用格式:** 高观祯, 饶平凡, 徐瑶, 等. 咖啡制备工艺对胶体颗粒形成及抗氧化特性的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(9): 1-7.

**Citation:** GAO Guanzhen, RAO Pingfan, XU Yao, et al. Effects of coffee preparation processes on colloidal particle formation and antioxidant properties[J]. Food & Machinery, 2025, 41(9): 1-7.

(0.3 mm) combined with hot brewing significantly increased the dissolution rates of total solids, polyphenols, and lipids ( $P < 0.05$ ) and promoted the formation of colloidal particles (light scattering intensity of hot brew: 115 501.8 kcps, far exceeding 1 250.2 kcps for cold brew). Ultrafiltration showed that lipids and other components were enriched in the colloidal particles. The true solution phase (filtrate) primarily contributed to extracellular antioxidant activity, while the colloidal phase (retentate) exhibited significant biological activity in the CAA assay. [Conclusion] High-temperature extraction and fine grinding significantly enhance the formation of colloidal particles by promoting the dissolution and self-assembly of components. These colloidal particles constitute the key material basis for the intracellular antioxidant activity of coffee.

**Keywords:** coffee; colloidal particles; grinding size; extraction temperature; intracellular antioxidant activity

咖啡作为全球最受欢迎的饮品之一,其独特的风味和潜在的健康益处广受关注。流行病学研究<sup>[1]</sup>表明,适量饮用咖啡与降低多种慢性疾病(如心血管疾病、2型糖尿病和某些癌症)的风险相关,这在很大程度上归因于其富含的生物活性物质,尤其是以多酚类为主的抗氧化剂。近年来食品科学领域的研究范围正在发生转变,关注点从单纯的可溶性小分子扩展到了食品基质中天然存在或加工过程中形成的纳米级胶体颗粒,即“偶然性纳米颗粒”(incidental nanoparticles)<sup>[2]</sup>。这些源于食品的纳米结构,如蛋白质聚集体、多糖复合物或脂质胶束,正被重新认识,它们不仅是影响质构和稳定性的关键因素,更可能作为功能性成分的天然载体,其可通过改善溶解度、稳定性及生物利用度,介导独特的生物学效应<sup>[3-6]</sup>。

咖啡液是一个典型的、但常被简化为真溶液的复杂胶体分散体系。物理化学领域早已认识到咖啡的颗粒性质,著名的“咖啡环效应”便是胶体颗粒在蒸发液滴边缘沉积的经典物理现象,直观地证明了咖啡液中存在不可忽略的固相颗粒<sup>[7]</sup>。然而,在功能食品和营养学研究中,咖啡长期以来被主要视为一种含有咖啡因、绿原酸等小分子的真溶液,其健康效应的机制研究也大多聚焦于这些可溶性成分的直接作用<sup>[8]</sup>。这种将咖啡简化为真溶液的视角,忽视了其中由蛋白质、多糖和脂质等大分子通过自组装形成的纳米或微米级胶体颗粒的潜在功能。这些颗粒不仅对咖啡的醇厚度(body)和油脂泡沫(crema)的形成至关重要,更可能负载活性成分或自身即具有生物活性,但这一领域的研究尚处于起步阶段。而且咖啡的制备工艺对胶体颗粒的形成、数量和理化性质,以及胶体颗粒是否对咖啡的整体生物学活性有直接贡献等尚不明瞭。

研究拟考察研磨粒径和萃取温度对咖啡液化学组分、胶体学特性及体外与细胞内抗氧化活性的影响。通过超滤技术分离胶体相与真溶液相,旨在剖析二者在化学组成和功能上的差异,从而揭示咖啡胶体颗粒的物质基础及其在抗氧化防御体系中的独特作用,为深入理解咖啡的生物学效应和优化其健康导向的制备工艺提供新的科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

咖啡豆:浅烘焙卡蒂姆(*Coffea arabica* L. var. Caturra)

品种咖啡豆,沈阳黑精泽咖啡工作室;

MEM 培养基、PBS/Hank's 缓冲液(HBSS)、0.25% EDTA-胰酶、双抗(青霉素、链霉素)和谷氨酰胺:美国 GIBCO 公司;

胎牛血清:以色列 Biological Industries 公司;

2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)、2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐(AAPH)、Trolox、维生素 C、溴化四氮唑(MTT)、2,2'-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):美国 Sigma-Aldrich 公司;

96/48/12/6 孔板(黑色透底和普通透底)与 T-75 细胞培养板:美国 Corning 公司;

无水葡萄糖、蔗糖、考马斯亮蓝 G-250、牛血清蛋白(BSA)、氯化钠、酒石酸钾钠、氢氧化钠、无水亚硫酸钠、没食子酸、无水碳酸钠、苯酚、福林酚、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、乙醇、硫酸、二甲基亚砜(DMSO):分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

电子天平:ML204/02 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

电动咖啡研磨机:EVCG-8B-C 型,日本 Hario 株式会社;

纳米粒度电位仪:Nano-ZS 90 型,英国马尔文仪器有限公司;

高速离心机:T15A36 型,日本 Hitachi Koki 株式会社;

紫外可见分光光度计:UV-5100 型,日立科学仪器(北京)有限公司;

多功能酶标仪:FlexStation 3 型,美国 Molecular Devices 公司。

### 1.3 咖啡样液制备

1.3.1 不同颗粒大小及冲泡方式样液的制备 参考相关研究<sup>[9]</sup>,并根据试验设计,咖啡豆被分为 3 种粒度。其中,粗研磨粒度直接采用未经处理的完整咖啡豆。中等研磨(0.90~1.00 mm)与细研磨(0.30~0.45 mm)的样品制备过程:使用电动咖啡研磨机,将档位设定为 22 进行研磨。研磨后的咖啡粉通过标准筛网进行筛选:取通过 18 目(1.00 mm)筛而未通过 20 目(0.90 mm)筛的颗粒,作为中等研磨样品;取通过 40 目(0.45 mm)筛而未通过 60 目(0.30 mm)筛的颗粒,作为细研磨样品。

(1) 热冲(hot brew, R)样液:称取 10 g 咖啡粉,置于

已用沸水润湿的扇形滤纸上,以1:15(g/mL)的料水比,用煮沸的纯水分两次冲泡,总萃取时间控制在3 min。将收集的咖啡液在400×g条件下离心15 min,取上清液用于后续分析。样品分别记为RD(完整豆热冲)、R 0.9 mm和R 0.3 mm。

(2) 冷泡(cold brew, L)样液:将10 g咖啡粉放入专用滤袋,以1:15(g/mL)的比例浸入10℃纯水中,于4℃冰箱中冷藏萃取24 h。将咖啡液在400×g条件下离心15 min,取上清液用于后续分析。样品分别记为LD(完整豆冷泡)、L 0.9 mm和L 0.3 mm。

1.3.2 超滤分离 使用标称截留相对分子质量为 $1 \times 10^5$ 的超滤离心管,取4 mL咖啡原液,在4 800×g、4℃下离心20 min。离心结束后,管外的滤过液代表富含小分子的真溶液相;管内的截留物用等体积的纯水重悬,得到截留液,代表富含胶体颗粒的胶体相。

#### 1.4 化学成分分析

1.4.1 总固形物含量 采用105℃干燥至恒重法测定。

1.4.2 总糖含量 采用蒽酮—硫酸<sup>[10]</sup>测定。

1.4.3 蛋白质含量 采用考马斯亮蓝法<sup>[11]</sup>测定,以牛血清蛋白(BSA)为标准品。

1.4.4 总多酚含量 采用福林—酚法<sup>[12]</sup>测定,以没食子酸为标准品。

1.4.5 油脂含量 采用哥特里—罗紫法<sup>[13]</sup>测定。

#### 1.5 胶体学特性表征

使用纳米粒度电位仪对样液的胶体学特性进行表征。将样品在25℃下平衡120 s后,于173°散射角及633 nm激光波长条件下进行动态光散射(DLS)分析,记录其平均粒径(Z-average)、多分散性指数(PDI)、光散强度(DCR)及Zeta电位。

#### 1.6 胞外抗氧化活性测定

分别采用氧自由基吸收能力(ORAC)法<sup>[14]</sup>、ABTS自由基清除法和DPPH自由基清除法<sup>[15]</sup>测定样品的胞外抗氧化活性。在ORAC分析中,将25 μL样品与150 μL荧光素钠在37℃孵育10 min,加入25 μL AAPH后监测荧光衰减(激发波长485 nm,发射波长530 nm)。对于ABTS法,将10 μL样品与200 μL ABTS工作液混合,在30℃反应6 min后,测定734 nm吸光度。对于DPPH法,将100 μL样品与100 μL DPPH工作液混合,于室温反应30 min后,测定517 nm吸光度。ORAC和ABTS法的活性以Trolox当量(μmol Trolox/mL)表示,DPPH法以维生素C当量(μmol Vc/mL)表示。

#### 1.7 胞内抗氧化活性(CAA)测定

采用RAW264.7巨噬细胞模型。首先通过MTT法筛选样品在测试浓度下无细胞毒性的稀释倍数。然后,根据细胞抗氧化活性(cellular antioxidant activity, CAA)分析法<sup>[16]</sup>:将对数生长期的细胞以 $3 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ 个/孔的密度接种于96孔板中培养24 h。随后,细胞与100 μL无毒浓

度的样品以及100 μL浓度为25 μmol/L的DCFH-DA荧光探针共孵育1 h。洗涤后,加入100 μL浓度为600 μmol/L的AAPH诱导氧化应激(空白组加入HBSS)。立即使用多功能酶标仪在37℃下监测荧光强度变化(激发波长485 nm,发射波长538 nm),每5 min记录一次,持续60 min。通过检测荧光强度的抑制情况来计算CAA值,评价样品在细胞微环境中的抗氧化能力。CAA值通过计算荧光曲线下面积(A)进行评估,计算式如式(1)所示。

$$C_{AA} = 100\% - \frac{[S_A] - [B_A]}{[C_A] - [B_A]} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

$C_{AA}$ ——胞内抗氧化活性,%;

$[S_A]$ ——样品组荧光曲线的积分下面积;

$[C_A]$ ——对照组荧光曲线的积分下面积;

$[B_A]$ ——空白组荧光曲线的积分下面积。

#### 1.8 数据分析

所有试验均重复3次,结果以均数±标准差表示。使用IBM SPSS Statistics 26软件进行单因素方差分析(ANOVA)和Duncan多重比较检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

#### 2.1 制备工艺对咖啡化学成分及胶体特性的影响

制备工艺对咖啡液的化学成分溶出及胶体结构形成具有决定性影响。如表1所示,研磨粒径和萃取温度是调控咖啡液化学组成的关键因素。在热萃取条件下,研磨粒径的影响尤为突出。随着咖啡豆研磨粒径从完整豆减小至0.3 mm,总固形物、总糖、总多酚及油脂的溶出量均呈现出统计学上的显著增加( $P < 0.05$ )。这一结果与经典的传质理论相符,即更小的研磨粒径提供了更大的比表面积,从而增强了溶质从咖啡基质向水相的扩散效率与速率<sup>[17]</sup>。近期的研究<sup>[18]</sup>也通过试验证实,在浓缩咖啡等高温高压萃取中,更细的研磨度显著提高了总固形物、咖啡因和绿原酸的提取率。

然而,在冷萃取条件下,研磨粒径的影响呈现出更为复杂的非线性规律。研究发现,0.9 mm与0.3 mm粒径样品的总固形物含量无显著差异( $P > 0.05$ )。更值得注意的是,在总多酚含量上,0.9 mm粗研磨样品的溶出量反而显著高于0.3 mm的细研磨样品( $P < 0.05$ )。此现象可能归因于冷萃取长达24 h的低温浸泡过程。一方面,充分的萃取时间在一定程度上弥补了较粗粒径在传质动力学上的劣势,使得溶质最终能够达到或接近其溶解平衡<sup>[9]</sup>。另一方面,这种反常现象凸显了冷萃取过程中复杂的物理化学过程,其中可能涉及不同粒径下目标化合物的差异化吸附—解吸平衡,甚至降解途径。这些因素共同导致了冷萃取咖啡的化学成分与传统热萃取存在本质区别<sup>[19]</sup>,其具体机制值得进一步深入探究。

当固定研磨粒径以比较萃取温度的影响时,结果揭

表 1 不同制备工艺下咖啡液的化学成分<sup>†</sup>

| Table 1 Chemical compositions of coffee infusions prepared by different methods |                         |                        |                        |                        | mg/mL                   |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| 样品                                                                              | 总固形物                    | 总糖                     | 蛋白质                    | 总多酚                    | 油脂                      |
| RD                                                                              | 0.59±0.03 <sup>c</sup>  | 0.05±0.00 <sup>f</sup> | 0.04±0.00 <sup>d</sup> | 0.02±0.00 <sup>f</sup> | 0.11±0.01 <sup>d</sup>  |
| R 0.9 mm                                                                        | 10.30±1.21 <sup>c</sup> | 1.33±0.01 <sup>d</sup> | 0.20±0.02 <sup>c</sup> | 1.81±0.04 <sup>d</sup> | 0.43±0.01 <sup>b</sup>  |
| R 0.3 mm                                                                        | 18.93±1.04 <sup>a</sup> | 3.38±0.01 <sup>a</sup> | 0.50±0.01 <sup>a</sup> | 3.37±0.04 <sup>a</sup> | 0.75±0.05 <sup>a</sup>  |
| LD                                                                              | 7.23±0.76 <sup>d</sup>  | 0.74±0.01 <sup>e</sup> | 0.05±0.00 <sup>d</sup> | 0.63±0.00 <sup>e</sup> | 0.21±0.07 <sup>cd</sup> |
| L 0.9 mm                                                                        | 13.77±0.65 <sup>b</sup> | 2.37±0.05 <sup>c</sup> | 0.18±0.01 <sup>c</sup> | 2.46±0.06 <sup>b</sup> | 0.24±0.09 <sup>cd</sup> |
| L 0.3 mm                                                                        | 15.03±0.61 <sup>b</sup> | 3.20±0.01 <sup>b</sup> | 0.26±0.02 <sup>b</sup> | 2.29±0.03 <sup>c</sup> | 0.33±0.01 <sup>c</sup>  |

† 同列小写字母不同表示组间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

示了温度与萃取时间的交互作用对不同化学成分溶出的差异化影响。对于总固形物和总多酚,在较粗粒径下,冷萃取法(4℃、24 h)凭借其时间优势,溶出量超过了短时热萃取法(100℃、3 min);然而,在0.3 mm的细研磨条件下,热萃取的高温极大地加速了传质速率,其溶出效率反超了长时间的低温浸泡。这一发现与Taip等<sup>[20]</sup>的研究结论一致,即提高萃取温度是加速酚类等极性化合物溶出动力学的决定性因素。

相比之下,温度对油脂溶出的影响则呈现出高度一致且显著的规律。在所有研磨粒径下,热萃取咖啡的油脂含量均远高于冷萃取样品。尤其在0.3 mm粒径下,热萃取液的油脂质量浓度(0.75 mg/mL)是冷萃取液的2倍以上。这一结果明确表明,热能对于咖啡细胞结构的破坏以及熔点较高的脂质的释放和乳化至关重要。高温不仅促进了脂质的液化和迁移,还促进了天然乳化剂(如多糖和蛋白质)的溶出,从而为后续形成稳定且贡献口感(如醇厚度和风味)的胶体颗粒提供了关键的物质基础<sup>[21]</sup>。

咖啡中胶体颗粒的形成以溶出的化学成分为物质基础。如表1与表2所示,总固形物含量与胶体颗粒数量之间存在显著的非线性关系。以0.3 mm粒径样品为例,从冷萃(L 0.3 mm)到热冲(R 0.3 mm),总固形物含量仅增加了26%(从15.03 mg/mL至18.93 mg/mL),然而反映胶体数量与尺寸的光散射强度却飙升了近两个数量级(约92倍)。这种溶出量的小幅增加与胶体数量的指数级增长之间的巨大反差,凸显了高温在自组装过程中的决定

性作用。从热力学角度看,高温不仅促进了脂质等核心组分的溶出,更关键的是提供了足够的能量驱动力,使两亲性分子(如脂质、蛋白质)克服能垒,通过疏水相互作用自发组织成有序的胶体结构<sup>[22]</sup>。因此,萃取温度是调控胶体颗粒形成的主导因素。

为进一步评估所形成胶体体系的稳定性,研究测定了其多分散指数(PDI)与Zeta电位。热冲咖啡普遍表现出较低的PDI值(例如,R 0.3 mm为0.14),表明高温条件不仅促进了胶体的高效生成,还有利于形成粒径均一、物理稳定性高的胶体体系。相反,冷萃咖啡的PDI值均大于0.6,这揭示了其体系的高度多分散性可能包含不规则的大尺寸聚集体,导致物理稳定性较差。

在静电稳定性方面,所有样品的Zeta电位均为负值,证实颗粒表面携带负电荷。其电位绝对值范围处于12~22 mV,根据DLVO理论,这一范围通常被认为处于胶体不稳定或仅具边缘稳定性的区间,颗粒间存在一定的聚集趋势<sup>[23]</sup>。值得注意的是,较大研磨粒径的样品(如R 0.9 mm和L 0.9 mm)反而表现出更高的电位绝对值。此现象可能归因于在萃取过程中,某些带电荷的酸性大分子(如绿原酸或多糖)优先从较粗的颗粒中溶出并吸附于胶体表面,从而增加了表面的电荷密度<sup>[24]</sup>。然而,静电排斥力并非决定体系稳定性的唯一因素。以L 0.9 mm样品为例,尽管其Zeta电位相对较高(−21.8 mV),但其极高的PDI值(>0.7)表明,物理上的高度不均一性是影响该体系整体稳定性的主导因素。该体系本质上仍是由尺寸

表 2 不同制备工艺下咖啡液的胶体学性质<sup>†</sup>

| Table 2 Colloidal properties of coffee infusions prepared by different methods |                               |                        |                                |                           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| 样品                                                                             | 粒径/nm                         | PDI 值                  | DCR 值/keps                     | Zeta 电位/mV                |
| RD                                                                             | 1 006.90±659.81 <sup>ab</sup> | 0.84±0.23 <sup>a</sup> | 125.53±7.82 <sup>d</sup>       | −16.97±2.36 <sup>ab</sup> |
| R 0.9 mm                                                                       | 176.20±2.94 <sup>b</sup>      | 0.17±0.01 <sup>b</sup> | 15 055.13±197.40 <sup>b</sup>  | −21.33±2.64 <sup>b</sup>  |
| R 0.3 mm                                                                       | 245.90±3.26 <sup>b</sup>      | 0.14±0.01 <sup>b</sup> | 115 501.80±696.69 <sup>a</sup> | −13.87±0.93 <sup>a</sup>  |
| LD                                                                             | 113.11±23.83 <sup>b</sup>     | 0.71±0.28 <sup>a</sup> | 304.20±35.38 <sup>d</sup>      | −12.48±3.30 <sup>a</sup>  |
| L 0.9 mm                                                                       | 1 227.15±431.12 <sup>a</sup>  | 0.88±0.12 <sup>a</sup> | 1 366.40±65.48 <sup>c</sup>    | −19.63±1.21 <sup>b</sup>  |
| L 0.3 mm                                                                       | 645.37±26.09 <sup>ab</sup>    | 0.67±0.03 <sup>a</sup> | 1 250.17±13.34 <sup>c</sup>    | −17.63±0.87 <sup>ab</sup> |

† 同列小写字母不同表示组间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

差异悬殊的颗粒构成的多相分散体系,其稳定性主要受范德华力和空间位阻效应控制,而非静电排斥力<sup>[25]</sup>。

2.2 咖啡胶体颗粒的物质组成分析

为了探究胶体颗粒的物质组成,研究对 R 0.9 mm 与 R 0.3 mm 热冲咖啡样品进行了超滤分离,并分析了各组分在胶体相(截留液)中的分布与比例(表3与表4)。结果显示,不同化学成分在胶体相中的分配存在巨大差异。脂质表现出最强的胶体缔合趋势,其在 R 0.9 mm 和 R 0.3 mm 样品胶体相中的分布比例分别高达 56.9% 和 30.7%。相比之下,亲水性更强的总多酚在胶体相中的分布比例则要低得多,仅为 6.1% 和 19.6%。总糖和蛋

白质也呈现出类似的趋势,主要存在于真溶液相。这些数据表明,咖啡中的多种化学成分确实以结合态存在于胶体颗粒中,但其缔合程度各不相同。脂质在胶体相中显著富集,强烈暗示其在胶体颗粒形成中扮演核心角色。咖啡豆中的脂质在高温下释放并乳化,成为胶体颗粒的疏水核心<sup>[26]</sup>。而烘焙过程中产生的大量两亲性大分子类黑精及部分蛋白质,则可能作为天然乳化剂,包裹在脂质核心外层,形成稳定的“核—壳”纳米结构。已有研究<sup>[27]</sup>证实,咖啡中的类黑精具有优良的乳化性能,能够吸附在油水界面,通过静电和空间位阻效应稳定乳液。

表3 热冲咖啡经超滤后各化学成分在胶体相与真溶液相中的分布<sup>†</sup>

Table 3 Distribution of chemical components in colloidal and true solution phases of hot-brewed coffee after ultrafiltration mg/mL

| 样品       | 组分  | 总固形物                    | 总糖                     | 蛋白质                    | 总多酚                    | 油脂                     |
|----------|-----|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| R 0.9 mm | 原液  | 10.30±1.21 <sup>e</sup> | 1.33±0.01 <sup>e</sup> | 0.20±0.02 <sup>e</sup> | 1.81±0.04 <sup>e</sup> | 0.51±0.01 <sup>b</sup> |
|          | 截留液 | 2.32±1.06 <sup>f</sup>  | 0.35±0.03 <sup>e</sup> | 0.06±0.00 <sup>e</sup> | 0.11±0.00 <sup>f</sup> | 0.29±0.07 <sup>e</sup> |
|          | 滤过液 | 8.02±0.22 <sup>d</sup>  | 0.91±0.01 <sup>d</sup> | 0.11±0.00 <sup>d</sup> | 1.42±0.01 <sup>d</sup> | 0.24±0.14 <sup>e</sup> |
| R 0.3 mm | 原液  | 18.93±1.04 <sup>a</sup> | 3.38±0.01 <sup>a</sup> | 0.50±0.01 <sup>a</sup> | 3.37±0.04 <sup>a</sup> | 0.75±0.05 <sup>a</sup> |
|          | 截留液 | 6.07±0.86 <sup>e</sup>  | 1.07±0.03 <sup>d</sup> | 0.24±0.02 <sup>e</sup> | 0.66±0.00 <sup>e</sup> | 0.23±0.01 <sup>e</sup> |
|          | 滤过液 | 14.86±1.10 <sup>b</sup> | 2.35±0.13 <sup>b</sup> | 0.27±0.01 <sup>b</sup> | 2.71±0.03 <sup>b</sup> | 0.41±0.10 <sup>e</sup> |

† 同列小写字母不同表示组间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

表4 热冲咖啡中各化学成分在胶体相中的分布比例

Table 4 Distribution ratio of chemical components in the colloidal phase of hot-brewed coffee %

| 样品       | 总固形物  | 总糖    | 蛋白质   | 总多酚   | 油脂    |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| R 0.9 mm | 22.52 | 26.32 | 30.00 | 6.08  | 56.86 |
| R 0.3 mm | 32.07 | 31.66 | 48.00 | 19.58 | 30.67 |

2.3 咖啡胶体颗粒对胞内外抗氧化活性的贡献

为进一步探究咖啡的抗氧化机制,研究分别评估了咖啡原液及其超滤组分在化学及细胞模型中的活性。在体外化学抗氧化评估中(表5),咖啡液的自由基清除能力主要由真溶液相(滤过液)贡献。例如,在 R 0.3 mm 样品中,滤过液的 ORAC 值( $164.61\text{ }\mu\text{mol Trolox/mL}$ )占原液( $172.78\text{ }\mu\text{mol Trolox/mL}$ )的 95% 以上。这表明水溶性小分子(如多酚)是体外直接化学反应的主要活性成分,这与传统认知一致<sup>[28]</sup>,体外化学测定方法(如 ORAC、ABTS、DPPH)的核心是测量样品与自由基探针的直接化学反应,因此,自由溶解的小分子抗氧化剂是主要贡献者。尽管胶体相(截留液)也表现出一定活性,可能源于其表面吸附或内部包埋的抗氧化物,但其贡献显著低于滤过液。值得注意的是,截留液在 DPPH 法中的相对贡献高于其他方法,这可能与自由基的理化性质有关:尺寸更小且电中性的 DPPH 自由基,相比带正电荷的 ABTS 自由基阳离子,或许能更有效地穿透胶体界面,与内部或界面

处的活性位点相互作用<sup>[29]</sup>。

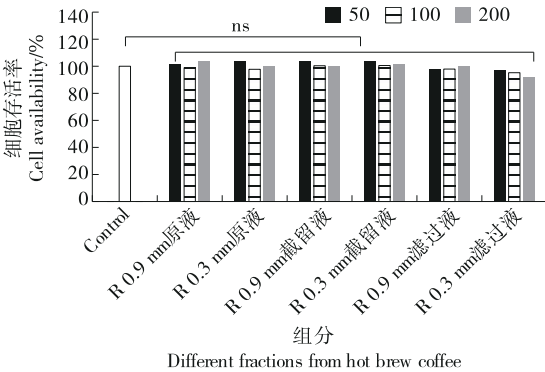
然而,当评价体系从简单的化学反应转变为更能模拟生理条件的细胞模型时,研究观察到了显著的活性逆转。如图1所示,热冲咖啡样品在3个稀释倍数下对细胞的存活率均无显著性影响,表明其对巨噬细胞无毒性。在细胞抗氧化活性(CAA)分析中(表6),体外活性较弱的胶体相(截留液)反而展现出显著的胞内抗氧化效能,例如 R 0.3 mm 样品的截留液 CAA 值高达( $68.26\pm1.16$ )%。这种在化学与细胞模型间表现出的显著差异,表明咖啡可能存在一种超越直接化学清除的、依赖于细胞生理过程的第二重抗氧化机制,即咖啡的抗氧化活性可能存在双重机制:直接化学清除机制和胶体颗粒介导的细胞递送机制。直接化学清除机制:主要由真溶液相(滤过液)中的溶解态小分子介导,它们在体外或消化道等胞外环境中直接中和自由基。胶体颗粒介导的细胞递送机制:纳米级的咖啡胶体颗粒(中粒径约 246 nm)作为天然的纳米递送载体,通过胞吞作用等途径被细胞高效内化<sup>[30]</sup>。进入细胞后,这些颗粒在特定的胞内微环境(如酸性的溶酶体)中降解,将其封装的抗氧化物质(特别是生物利用度较低的脂溶性或两亲性成分)靶向释放。后一种机制可能源于胶体颗粒的独特物理特性,如改善抗氧化物质的生物利用度、与细胞膜的相互作用或靶向递送活性物质,从而更有效地调节细胞内的氧化应激状态<sup>[31-32]</sup>。

表 5 热冲咖啡各组分的体外化学抗氧化活性及贡献率<sup>†</sup>

Table 5 *In vitro* chemical antioxidant activity and contribution rate of different fractions from hot-brewed coffee

| 样品       | 组分  | ORAC 法                                           |       | ABTS 法                                           |       | DPPH 法                                        |       |
|----------|-----|--------------------------------------------------|-------|--------------------------------------------------|-------|-----------------------------------------------|-------|
|          |     | 活性/( $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 贡献率/% | 活性/( $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 贡献率/% | 活性/( $\mu\text{mol V}_c\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 贡献率/% |
| R 0.9 mm | 原液  | 108.59 $\pm$ 1.96 <sup>b</sup>                   |       | 1.04 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>                     |       | 0.07 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>                  |       |
|          | 截留液 | 38.93 $\pm$ 1.78 <sup>d</sup>                    | 35.85 | 0.23 $\pm$ 0.02 <sup>f</sup>                     | 22.11 | 0.03 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>                  | 42.86 |
|          | 滤过液 | 102.60 $\pm$ 2.83 <sup>b</sup>                   | 94.48 | 0.97 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>                     | 93.27 | 0.05 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>                  | 71.43 |
| R 0.3 mm | 原液  | 172.78 $\pm$ 8.14 <sup>a</sup>                   |       | 1.78 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>                     |       | 0.08 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                  |       |
|          | 截留液 | 60.39 $\pm$ 4.32 <sup>c</sup>                    | 34.95 | 0.59 $\pm$ 0.09 <sup>e</sup>                     | 33.14 | 0.03 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>                  | 37.50 |
|          | 滤过液 | 164.61 $\pm$ 8.09 <sup>a</sup>                   | 95.27 | 1.40 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>                     | 78.65 | 0.07 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>                  | 87.50 |

<sup>†</sup> 同列小写字母不同表示组间存在显著性差异( $P<0.05$ )。



ns.表示未添加AAPH的样品组与Control组比较无显著性

图 1 热冲咖啡各组分对RAW264.7巨噬细胞存活率的影响  
Figure 1 Effect of different fractions from hot-brewed coffee on viability of RAW264.7 macrophages

表 6 热冲咖啡各组分的胞内抗氧化活性<sup>†</sup>

Table 6 Intracellular antioxidant activity values of different fractions from hot-brewed coffee

| 样品       | CAA 值/%                       |                  |                               |
|----------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|
|          | 原液                            | 滤过液              | 截留液                           |
| R 0.9 mm | 83.54 $\pm$ 1.97 <sup>a</sup> | 75.61 $\pm$ 4.80 | 57.82 $\pm$ 4.15 <sup>b</sup> |
| R 0.3 mm | 90.24 $\pm$ 1.67 <sup>b</sup> | 83.20 $\pm$ 6.25 | 68.26 $\pm$ 1.16 <sup>a</sup> |

<sup>†</sup> 同列小写字母不同表示组间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

3 结论

(1) 细研磨与高温萃取(热冲)是提升咖啡成分溶出率和促进胶体颗粒形成的关键工艺组合。特别是高温,它不仅增加了溶质总量,更关键的是通过优先萃取脂质等两亲性分子,极大地驱动了胶体颗粒的自组装过程,从而形成数量更多、分布更均一的纳米胶体颗粒。

(2) 咖啡的抗氧化活性存在双重机制:①由真溶液相中的可溶性小分子介导的、可在体外化学测定中捕获的直接自由基清除作用;②由胶体颗粒相介导的、在细胞微环境中体现的卓越生物学保护作用。胶体颗粒作为一种高效的生物活性纳米载体,能够有效穿透细胞屏障,将

活性成分递送至胞内,从而发挥关键的细胞保护功能。

(3) 通过调控制备工艺可以定向调控咖啡中胶体颗粒的形成和性质,从而可能影响其健康功效。但该研究也存在一定的局限性,未来的研究可以集中在以下几个方面:①利用更先进的技术手段(如质谱法)精确鉴定胶体颗粒中负载或结合的生物活性物质种类;②通过模拟消化模型和细胞吸收模型,深入探究这些胶体颗粒如何影响抗氧化物质的生物利用度;③探索不同品种和烘焙度的咖啡豆对胶体颗粒形成及其功能的影响,为开发具有特定健康益处的功能性咖啡产品提供科学依据。

参考文献

[1] BARREA L, PUGLIESE G, FRIAS-TORAL E, et al. Coffee consumption, health benefits and side effects: a narrative review and update for dietitians and nutritionists[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(9): 1 238-1 261.

[2] GAO G Z, WANG H Q, ZHOU J W, et al. Isolation and characterization of bioactive proteoglycan-lipid nanoparticles from freshwater clam (*Corbicula fluminea* muller) soup[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(5): 1 610-1 618.

[3] HAN H, KE L J, XU W, et al. Incidental nanoparticles in black tea alleviate DSS-induced ulcerative colitis in BALB/c mice[J]. Food & Function, 2023, 14(18): 8 420-8 430.

[4] GAO G Z, ZHOU J W, JIN Y Y, et al. Nanoparticles derived from porcine bone soup attenuate oxidative stress-induced intestinal barrier injury in Caco-2 cell monolayer model[J]. Journal of Functional Foods, 2021, 83: 104573.

[5] HAN H, KE L J, WANG H Q, et al. Incidental nanoparticles in black tea infusion: carriers of bioactives fortifying protection on intestinal mucosal cells against oxidative stresses[J]. Food Biophysics, 2022, 17: 209-220.

[6] WANG H Q, HUANG J, DING Y N, et al. Nanoparticles isolated from porcine bone soup ameliorated dextran sulfate sodium-induced colitis and regulated gut microbiota in mice[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 821404.

[7] SHENG S Q, FANG Z N, YANG H J, et al. Simultaneously

- suppressing the coffee ring effect of solutes with different sizes [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2023, 127(49): 10 615-10 623.
- [8] MACHADO F, COIMBRA M A, DEL CASTILLO M D, et al. Mechanisms of action of coffee bioactive compounds - a key to unveil the coffee paradox[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2024, 64(28): 10 164-10 186.
- [9] WANG X J, LIM L T. Effects of grind size, temperature, and brewing ratio on immersion cold brewed and French press hot brewed coffees[J]. *Applied Food Research*, 2023, 3(2): 100334.
- [10] YUE F F, ZHANG J R, XU J X, et al. Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 963318.
- [11] KARIMI F, HAMIDIAN Y, BEHROUZIFAR F, et al. An applicable method for extraction of whole seeds protein and its determination through Bradford's method[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2022, 164: 113053.
- [12] LAWAG I L, NOLDEN E S, SCHAPER A A M, et al. A modified folin-ciocalteu assay for the determination of total phenolics content in honey[J]. *Applied Sciences*, 2023, 13(4): 2 135.
- [13] 杨津津. 食品中脂肪测定国家标准方法的改良应用[J]. *食品安全导刊*, 2022(35): 111-113, 128.
- YANG J L. Improvement and application of national standard method for determination of fat in food[J]. *China Food Safety Magazine*, 2022(35): 111-113, 128.
- [14] SKROZA D, ŠIMAT V, VRDOLJAK L, et al. Investigation of antioxidant synergisms and antagonisms among phenolic acids in the model matrices using FRAP and ORAC methods[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(9): 1 784.
- [15] RUMPF J, BURGER R, SCHULZE M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 233: 123470.
- [16] WANG H Q, SONG B B, ZHOU J W, et al. Fabrication and characterization of curcumin-loaded nanoparticles using licorice protein isolate from *Radix Glycyrrhizae*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 255: 128235.
- [17] BARREAR LÓPEZ J A, HERNANDEZ CARRIÓN M. Functional properties and sensory profile of coffee prepared by different brewing methods[J]. *Food Science and Technology International*, 2025, 31(3): 248-260.
- [18] KHAMITOVA G, ANGELONI S, BORSETTA G, et al. Optimization of espresso coffee extraction through variation of particle sizes, perforated disk height and filter basket aimed at lowering the amount of ground coffee used[J]. *Food Chemistry*, 2020, 314: 126220.
- [19] CÓRDOBA N, MORENO F L, OSORIO C, et al. Chemical and sensory evaluation of cold brew coffees using different roasting profiles and brewing methods[J]. *Food Research International*, 2021, 141: 110141.
- [20] TAIP F S, ABDUL GHANI N H, OTHMAN N. Empirical modelling, simulation and control of coffee brewing[J]. *Food Research*, 2025, 9(2): 32-39.
- [21] CORDOBA N, FERNANDEZ-ALDUENDA M, MORENO F L, et al. Coffee extraction: a review of parameters and their influence on the physicochemical characteristics and flavour of coffee brews[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 96: 45-60.
- [22] PHAM A C, CLULOW A J, BOYD B J. Formation of self-assembled mesophases during lipid digestion[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 657886.
- [23] MIDEKESSA G, GODAKUMARA K, ORD J, et al. Zeta potential of extracellular vesicles: toward understanding the attributes that determine colloidal stability[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(27): 16 701-16 710.
- [24] WANG X J, LIM L T. Modeling study of coffee extraction at different temperature and grind size conditions to better understand the cold and hot brewing process[J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2021, 44(8): e13748.
- [25] LI Y R, HUANG Y F, LU X K, et al. Criteria of distribution transitions in dispersed multiphase systems based on an extended lattice model[J]. *Langmuir*, 2023, 39(48): 17 021-17 030.
- [26] SILVA A C R, GARRETT R, REZENDE C M. A workflow for lipid annotation in coffee samples by liquid chromatography [M]// KOOLEN H. *Mass Spectrometry for Food Analysis*. New York: Springer US, 2022: 71-87.
- [27] FENG J L, BERTON-CARABIN C C, GUYOT S, et al. Coffee melanoidins as emulsion stabilizers[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 139: 108522.
- [28] WOŁOSIAK R, PAKOSZ P, DRUŻYŃSKA B, et al. Antioxidant activity of coffee components influenced by roast degree and preparation method[J]. *Applied Sciences*, 2023, 13(4): 2 057.
- [29] WU J Y, XIONG S W, HUANG Z L, et al. Ultrasound modifies the properties of sodium alginate: correlation between biological activities and molecular characteristics[J]. *Food Biophysics*, 2025, 20(3): 112.
- [30] WANG X R, WANG W X. Cellular journey of nanomaterials: theories, trafficking, and kinetics[J]. *Aggregate*, 2023, 4(6): e372.
- [31] XU L G, DUAN M C, CAI Z X, et al. Colloidal nanoparticles isolated from duck soup exhibit antioxidant effect on macrophages and enterocytes[J]. *Foods*, 2023, 12(5): 981.
- [32] FLEMING E, LUO Y C. Co-delivery of synergistic antioxidants from food sources for the prevention of oxidative stress[J]. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2021, 3: 100107.