

烘焙程度对小粒咖啡 5-羟甲基糠醛生成的影响

刘兴勇, 陈兴连, 林 涛, 王 丽, 汪禄祥, 李茂萱, 邵金良*

(云南省农业科学院 质量标准与检测技术研究所, 昆明 650205)

摘要 基于液液-分散固相萃取净化和高效液相色谱仪建立烘焙咖啡中 5-羟甲基糠醛定量测定方法。采用 1% 乙酸-乙腈溶液作为提取溶剂, 3.0 g 氯化钠+1.0 g 乙酸钠为盐析剂, 50 mg C₁₈ 粉+20 mg N-丙基乙二胺+200 mg 无水硫酸镁为分散固相萃取净化剂。以 Shiseido CAPCELL PAK MG C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm i.d., 5.0 μm)为分析柱, 实现 5-HMF 的分离, 以甲醇-水溶液为流动相进行梯度洗脱。在优化条件下, 5-HMF 在 0.5~50.0 mg/L 线性范围内线性良好, 相关系数为 0.9991, 检出限为 0.01 mg/kg, 定量限为 0.03 mg/kg, 在 3 个加标水平下, 5-HMF 的加标回收率为 85.50%~105.5%, 相对标准偏差为 4.28%~7.59%(n=5)。采用本方法测定了烘焙小粒咖啡中 5-HMF 含量。结果表明: 烘焙温度、烘焙时间和烘焙程度, 对小粒咖啡中 5-羟甲基糠醛含量影响非常明显。

关键词 小粒咖啡; 烘焙程度; 美拉德反应; 5-羟甲基糠醛

文章编号 1009-7848(2022)01-0324-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.01.035

咖啡作为世界三大饮料之一, 咖啡的消费量一直在增加^[1]。咖啡具有提神醒脑、消除疲劳、生津止渴、利尿等功效^[2]。咖啡分阿拉比卡(*Coffea arabica*)、罗布斯塔(*Coffea robusta*)和利比里亚(*Coffea liberica*)三大原种, 在中国称为小粒、中粒和大粒种咖啡^[3]。阿拉比卡咖啡(*Coffea arabica*)是全球生产最常见的咖啡品种, 占咖啡总产量的 75% 以上^[4]。云南是我国小粒咖啡主产区, 咖啡种植面积和产量均占到全国的 98% 以上, 云南具有低纬度、高海拔、昼夜温差大等地理环境和气候条件, 生产的咖啡具有浓而不苦, 香而不烈, 略带果酸味等特点^[5]。

咖啡的品质取决于烘焙过程和工艺, 起始烘焙温度通常在 180~250 °C 之间^[6], 咖啡中酸类物质(绿原酸、柠檬酸、苹果酸、乙酸、咖啡酰奎宁酸)、生物碱类(咖啡因、葫芦巴碱)、糖类、脂肪和蛋白质等发生不同程度的美拉德、Strecker 降解、焦糖化等反应, 生成吡嗪类、呋喃类、吡咯类、吡喃类和吡啶类化合物, 还有大量的醛类、酮类、酚类、酯类、醇类化合物, 这些化合物形成咖啡的特征风味^[7-10]。烘焙咖啡中丙烯酰胺、5-羟甲基糠醛(5-

HMF) 和羧甲基赖氨酸等已成为威胁咖啡饮用的安全性问题之一^[11-12]。普遍认为, 5-HMF 是由于糖等碳水化合物加热分解所形成^[13], Hamzalolu 等^[14]认为氨基酸、氨基酸-糖类混合物、维生素、多不饱和脂肪酸和类胡萝卜素在共同加热过程中也能形成少量的 5-HMF。葡萄糖加热转化的呋喃果糖可以促进 5-HMF 的形成, 5-HMF 是咖啡烘焙过程中形成丙烯酰胺的重要中间体, 二者含量呈负相关^[15]。富含天门冬酰胺和葡萄糖的食品原料中, 葡萄糖和天冬酰胺反应生成丙烯酰胺, 进一步加热分解而生成 5-HMF; 葡萄糖可直接分解为 5-HMF, 天门冬酰胺和葡萄糖是形成丙烯酰胺及 5-HMF 的共同前体反应物。同时, 5-HMF 与天冬酰胺反应也能生成丙烯酰胺^[16]。5-HMF 与丙烯酰胺呈拮抗作用^[15]。5-HMF 是美拉德反应和焦糖化反应的强度指示标志, 用来衡量小粒咖啡烘焙热加工过程中非酶促褐变的程度^[17]。随着人们生活水平、健康意识不断提升, 小粒咖啡的活性成分及其生理功能备受瞩目^[5]。5-HMF 作为咖啡烘焙中美拉德反应危害伴生物之一, 在高浓度下, 对人体黏膜、横纹肌和内脏均具有刺激和损伤作用, 具有基因毒性和遗传毒性^[18-19]。

目前, 对云南小粒咖啡的研究主要集中在生物活性物质、抗氧化功能及品质^[20-23]方面, 针对烘焙过程中 5-HMF 形成研究较少。本文以小粒生咖啡为对象, 开展烘焙温度、烘焙时间和烘焙方式对

收稿日期: 2021-01-21

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31660494)

作者简介: 刘兴勇(1985—), 男, 硕士, 助理研究员

通信作者: 邵金良 E-mail: shaojinliang@126.com

5-HMF 形成的影响,为优化小粒咖啡烘焙工艺和质量控制提供理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

铁皮卡、卡蒂姆和卡杜拉生咖啡豆,普洱市思茅区云南咖啡交易中心。烘焙咖啡豆粉碎后过 60 目筛,盛放于咖啡包装带中,封口备用。

试剂:甲醇、乙腈(HPLC 级),德国 Merck 公司产品,正己烷、氯化钠、乙酸钠、无水硫酸镁、冰乙酸(AR 级),国药集团化学试剂有限公司;*N*-丙基乙二胺(PSA)粉末、 C_{18} 粉,上海安谱实验科技股份有限公司;实验用水由 PURELAB flex 纯水机系统制得,英国埃尔格 ELGALabWater 公司。

5-羟甲基糠醛(5-Hydroxymethylfurfural)标准品($\geq 99\%$),美国 Sigma-aldrich 公司。

1.2 仪器与设备

Waters e2695-2489 高效液相色谱仪、在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、2489 紫外检测器、Empower 3 色谱数据工作站,美国 Waters 公司;Gene Cafe 3D 热风咖啡生豆烘焙机,韩国 Genesis 公司;JJ200 电子分析天平,江苏省常熟市双杰测试仪器厂产品;KQ500-E 型超声清洗器,江苏省昆山市超声仪器有限公司产品;QL-861 漩涡混合器,江苏省海门市其林贝尔仪器制造有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 烘焙温度 烘焙温度为 180,200,220,240,250,260 $^{\circ}\text{C}$,烘焙时间为 10 min,烘焙量为 200 g,研究烘焙温度对小粒咖啡 5-HMF 形成的影响。

1.3.2 烘焙时间 烘焙时间为 6.0,8.0,10.0,12.0,14.0,16.0,20.0 min,烘焙温度为 230 $^{\circ}\text{C}$,烘焙量为 200 g,研究烘焙时间对小粒咖啡 5-HMF 形成的影响。

1.3.3 烘焙方式^[24] 烘焙量为 200 g,按表 1 的参数进行烘焙试验,研究不同烘焙方式对小粒咖啡中 5-HMF 形成的影响。

1.4 标准溶液的配制

1.4.1 5-HMF 标准储备溶液 准确称取 5-HMF 10 mg(精确到 0.0001 g),于 10 mL 容量瓶中,用甲

表 1 咖啡豆烘焙的 8 种程度参数
Table 1 Parameters of eight roasting degree in roasted coffee

烘焙程度	烘焙温度/ $^{\circ}\text{C}$	烘焙时间/ min
浅烘焙(Light roast)	230	12
肉桂烘焙(Cinnamon roast)	235	12
微中烘焙(Medium roast)	240	14
浓度烘焙(High roast)	250	15
城市烘焙(City roast)	250	17
深城市烘焙(Full city roast)	250	19
法式烘焙(French roast)	250	21
意式烘焙(Italian roast)	250	23

醇溶液溶解并稀释至刻度,配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的 5-HMF 标准储备溶液,-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光贮存,有效期 12 个月。

1.4.2 5-HMF 标准中间溶液 准确吸取 1.0 mL 5-HMF 标准品储备溶液于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶液稀释至刻度,配制成 5-HMF 标准中间溶液。-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光贮存,有效期 3 个月。

1.4.3 5-HMF 标准工作溶液 分别吸取 5-HMF 标准中间溶液 0.10,0.20,0.50,1.00,2.50 mL,于 10 mL 容量瓶中,用初始流动相定容至刻度,配制成 5-HMF 标准工作溶液。现配现用。

1.5 样品的前处理方法

称取粉碎过 60 目筛的咖啡样品 2 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中,先加入 5 mL 正己烷,超声提取 15~20 min,依次加入 10 mL 水、10 mL 乙腈和 0.1 mL 乙酸,漩涡提取 3~5 min,最后加入盐析剂(3.0 g NaCl + 1.0 g NaAc),去除正己烷,取乙腈溶液 5 mL,加入净化剂(50 mg C_{18} 粉 + 20 mg PSA + 200 mg MgSO_4),漩涡提取 3~5 min,以 4 500 r/min 离心 5 min 后,取 2 mL 乙腈溶液过 0.22 μm 滤膜,待测。

1.6 色谱检测条件

Shiseido CAPCELL PAK MG C_{18} 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm i.d., 5.0 μm);柱温 30.0 $^{\circ}\text{C}$;流动相 A 为甲醇,流动相 B 为水,梯度洗脱程序:0~15 min,10%A,15~20.0 min,10%~60%A,20~25 min,60%~10%A,25~30 min,10%A;流速 0.80 mL/min。进样量 10.0 μL ,检测波长 284 nm。

1.7 数据处理

利用 Excel 2010 软件对数据进行统计;采用 SPSS 22.0 软件 Analyze 模块下的 Compare Means 进行方差分析,结果表示为“平均值±标准差”,并进行 Duncan's 差异显著性分析, $P<0.05$ 表示差异显著;通过 Excel 2010 进行数据图表的绘制。

2 结果与分析

2.1 烘焙咖啡中 5-HMF 含量分析

2.1.1 提取条件的优化 烘焙咖啡基质比较复杂,含有色素、脂肪、蛋白质以及糖类化合物^[25],

常用的净化方法有液液萃取法和固相萃取法,相关文献采用正己烷液液萃取法进行净化^[26],只能去除部分脂类,对咖啡中色素、其它脂类和糖类等杂质的去除效果较差。本试验对提取剂、盐析剂和净化剂进行了优化。结果显示,提取剂为 1%乙酸-乙腈溶液,盐析剂为 3.0 g NaCl+1.0 g NaAc,净化剂为 50 mg C₁₈+20 mg PSA+200 mg MgSO₄ 时,目标峰附近无杂质峰干扰,并且实现了基线分离(见图 2),确定的前处理条件分离和净化效果较好,且 5-HMF 回收率较好,达到 90.6%以上,能够满足试验要求。

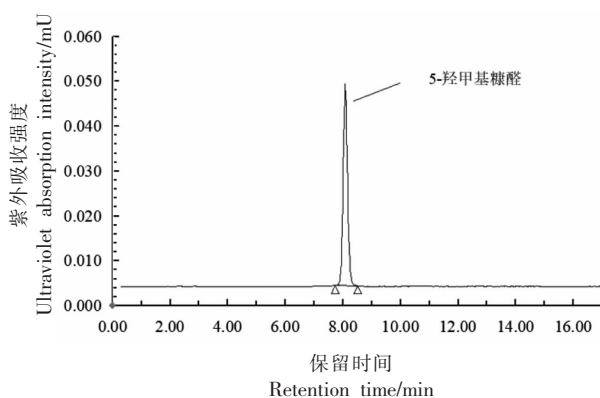


图 1 5-羟甲基糠醛标准品 HPLC 图

Fig.1 HPLC chromatogram of 5-hydroxymethylfurfural standard

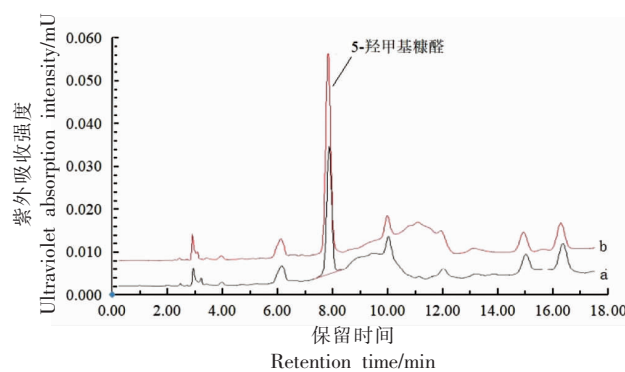


图 2 微中烘焙中 5-HMF 的 HPLC 色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of 5-hydroxymethylfurfural in medium roasting degree

2.1.2 线性范围、检出限和定量限 用流动相配制质量浓度为 0.5,1.0,2.0,5.0,10.0,20.0 mg/L 和 50.0 mg/L 的 5-HMF 标准工作溶液。在优化后的测定条件下进行测定,以 5-HMF 的峰面积(y)对其质量浓度(x)做工作曲线,5-HMF 在 0.5~50.0

mg/L 范围内有良好的线性关系,相关系数(r)为 0.9991。以 5-HMF 色谱峰 3 倍信噪比(S/N)计算检出限(LOD)为 0.01 mg/kg,以 5-HMF 色谱峰 10 倍信噪比(S/N)计算定量限(LOQ)为 0.03 mg/kg(见表 2)。

表 2 线性范围、线性方程和相关系数

Table 2 Linear ranges, linear regression equation and correlation coefficient

分析物	线性范围 $\rho/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	线性方程	相关系数(r)	检出限/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
5-HMF	0.50~50.0	$y=37913x-3362.7$	0.9991	0.01	0.03

2.1.3 回收率与精密度 微中烘焙的铁皮卡、卡蒂姆和卡杜拉样品中进行低、中、高 3 种质量分数(10,20,50 mg/kg)的 5-HMF 加标回收试验,每个添加水平做 5 组平行试验。5-HMF 的回收率为

85.50%~105.5%,相对标准偏差(RSD)为 4.28%~7.59%(见表 3)。

2.2 小粒咖啡烘焙时间和温度曲线

咖啡生豆本身没有香气,咖啡豆经过烘焙加

表 3 方法的回收率和精密度 ($n=5$)Table 3 Recovery and precision of the method ($n=5$)

微中 烘焙	本底值/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	添加量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$			测得量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$			回收率/%			相对标准偏差/%		
		10	20	50	20.25	30.57	59.52	85.50	94.35	95.64	4.66	5.32	4.35
铁皮卡	11.70	10	20	50	20.25	30.57	59.52	85.50	94.35	95.64	4.66	5.32	4.35
卡蒂姆	5.94	10	20	50	15.05	24.36	53.69	91.10	92.10	95.50	7.59	4.61	4.28
卡杜拉	6.22	10	20	50	16.57	25.44	58.39	103.5	96.10	104.3	6.24	5.12	5.13

热, 酸类物质、生物碱类、多糖、脂肪和蛋白质等发生诸如焦糖反应、美拉德反应、降解等诸多物理化学以及生化变化, 产生咖啡诱人香气和风味^[27], 咖啡烘焙加热是一个同时具备传热和传质的复杂过程。本试验小粒咖啡在整个烘烤过程中, 自动控温 and 翻转, 以保证受热均匀。将处于室温的咖啡生豆倒入预热后的烘焙机滚筒中, 滚筒内的温度会迅速且大幅下降, 原先内部积聚的热量被咖啡生豆

吸收并使水分蒸发, 随咖啡豆表面水分的蒸发流失, 咖啡豆表面温度先是趋稳, 随即迅速爬升, 并在 4 min 后达到约 115 °C, 随烘焙时间的延长, 其烘焙温度呈现升高趋势。铁皮卡、卡蒂姆和卡杜拉的烘焙时间-温度曲线基本相同(图 3)。

2.3 烘焙温度对 5-HMF 形成的影响

烘焙温度对铁皮卡、卡蒂姆和卡杜拉中 5-HMF 形成的影响如图 4 所示。

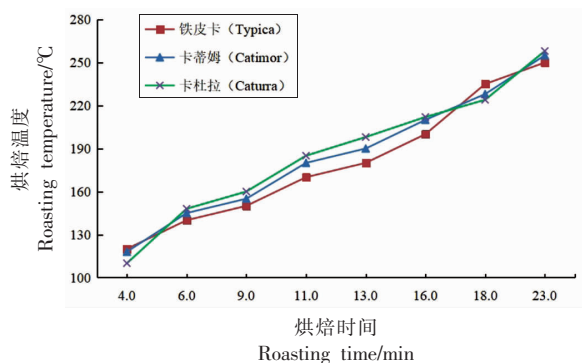


图 3 咖啡的烘焙时间-温度曲线

Fig.3 Curve temperature-time of roasting coffee process

5-HMF 是美拉德反应和焦糖化反应过程中形成的中间产物, 其产生受糖的种类、温度、pH 值、水分活度、加热时间的影响^[28]。图 4 显示, 烘焙温度对小粒咖啡中 5-HMF 的生成影响较大, 温度为 180~240 °C, 随烘焙温度的升高, 美拉德反应产物 5-HMF 的生成量逐渐增多, 240 °C 时达到峰值, 铁皮卡为 $(28.50\pm 0.15)\text{mg}/\text{kg}$ 、卡蒂姆为 $(25.34\pm 0.22)\text{mg}/\text{kg}$ 、卡杜拉为 $(16.65\pm 0.19)\text{mg}/\text{kg}$ 。烘焙温度大于 240 °C, 5-HMF 含量随温度的升高而显著下降, 260 °C 烘焙 10 min 后, 5-HMF 含量小于 0.05 mg/kg。意味着 5-HMF 可通过更高温度的烘焙而减少, 小粒咖啡烘焙过程中, 温度对 5-HMF 的影响较大, 240 °C 以上高温能促进烘焙中

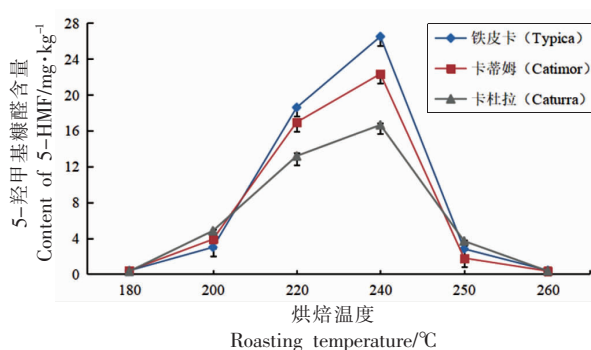


图 4 不同烘焙温度对烘焙咖啡 5-HMF 形成的影响

Fig.4 Effects of different roasting temperature on the formation of 5-hydroxymethylfurfural in roasted coffee

形成的 5-HMF 快速消解。

2.4 烘焙时间对 5-HMF 形成的影响

图 5 显示, 烘焙温度为 230 °C, 烘焙时间在 12 min 内, 小粒咖啡的 5-HMF 随烘焙时间延长, 其含量逐渐增加, 烘焙时间为 12 min, 铁皮卡含量为 $(27.03\pm 0.27)\text{mg}/\text{kg}$ 、卡蒂姆 $(25.10\pm 0.13)\text{mg}/\text{kg}$ 、卡杜拉 $(22.99\pm 0.25)\text{mg}/\text{kg}$; 烘焙时间大于 12.0 min, 5-HMF 含量随烘焙时间的延长而显著下降; 烘焙时间达到 20.0 min, 铁皮卡 5-HMF 含量 $(0.315\pm 0.12)\text{mg}/\text{kg}$ 、卡蒂姆 $(0.363\pm 0.21)\text{mg}/\text{kg}$ 、卡杜拉 $(0.321\pm 0.12)\text{mg}/\text{kg}$, 该结果与 Kocadağlı 等^[13]结论一致。说明咖啡烘焙过程中, 前期(12 min)加热能促进 5-HMF 的生成, 烘焙时间大于 12 min, 烘焙

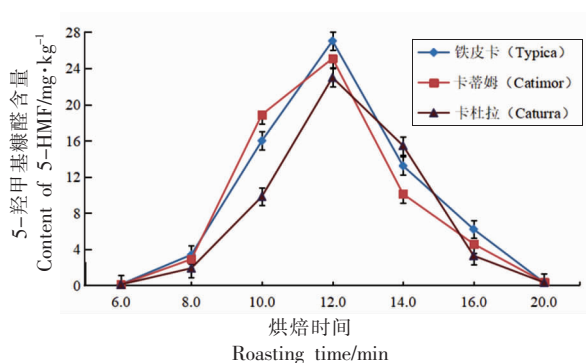


图5 不同烘焙时间对烘焙咖啡5-HMF形成的影响
Fig.5 Effects of different roasting time on the formation of 5-hydroxymethylfurfural in roasted coffee

咖啡的5-HMF明显降低直至消失,230℃烘焙20 min后,其5-HMF含量低于0.06 mg/kg,可能的原因是5-HMF降解为有机酸^[29]。

2.5 烘焙方式对5-HMF形成的影响

烘焙程度对铁皮卡、卡蒂姆和卡杜拉中5-HMF形成的影响见表4。

小粒咖啡在烘焙加热过程中,水分随温度升高而蒸发。咖啡豆水分降低,体积膨胀,同时发生诸多化学物理变化。随烘焙时间的延长,除水分蒸发,还有其它成分散失,使咖啡豆的质量减少^[30]。表4结果显示,随烘焙程度增加,5-HMF含量呈

快速降低趋势,不同烘焙程度咖啡豆中5-HMF含量差异显著($P<0.05$)。浅烘焙(230℃,12 min)和肉桂烘焙(235℃,12 min)的烘焙咖啡中,5-HMF含量分别为铁皮卡(30.53 ± 0.45)mg/kg和(36.76 ± 0.33)mg/kg,卡蒂姆(25.71 ± 0.32)mg/kg和(18.28 ± 0.41)mg/kg,卡杜拉(17.99 ± 0.48)mg/kg和(15.25 ± 0.37)mg/kg;烘焙程度达到意式烘焙(250℃,23 min),5-HMF含量降到最低,铁皮卡(0.21 ± 0.03)mg/kg,卡蒂姆(0.12 ± 0.04)mg/kg,卡杜拉(0.15 ± 0.03)mg/kg,5-HMF降解率分别为99.31%,99.53%和99.17%。不同烘焙程度的小粒咖啡5-HMF含量由大到小为浅烘焙>肉桂烘焙>微中烘焙>浓度烘焙>城市烘焙>深城市烘焙>法式烘焙>意式烘焙。

烘焙方式看:浅烘焙和肉桂烘焙属于轻度烘焙,烘焙温度和时间均未超过5-HMF的降解要求,轻度烘焙可使咖啡中累积较高含量的5-HMF;其余烘焙方式在温度和时间上均达到使5-HMF降解的要求,促进5-HMF含量显著降低。不同咖啡烘焙方式的5-HMF含量研究结果与温度和时间结果一致,因此,为控制或者消除咖啡中内源污染物5-HMF的含量,在保证风味的前提下,可通过调控烘焙的温度和时间减少烘焙咖啡中5-HMF的含量。

表4 不同烘焙程度的烘焙咖啡5-HMF含量(mg/kg)

Table 4 Content of 5-hydroxymethylfurfural of roasted coffee in different roasting degree (mg/kg)

烘焙程度		5-HMF含量		
		铁皮卡	卡蒂姆	卡杜拉
浅烘焙	轻	38.53 ± 0.45^a	25.71 ± 0.32^a	17.99 ± 0.48^a
肉桂烘焙	轻	36.76 ± 0.33^a	20.28 ± 0.41^a	15.25 ± 0.37^a
微中烘焙	中度	11.72 ± 0.36^b	5.91 ± 0.27^b	6.19 ± 0.26^b
浓度烘焙	中度(微深)	4.18 ± 0.24^c	2.76 ± 0.16^c	3.66 ± 0.21^c
城市烘焙	中度(深)	2.11 ± 0.12^c	0.99 ± 0.14^d	0.82 ± 0.14^d
深城市烘焙	微深度	0.48 ± 0.09^d	0.35 ± 0.12^d	0.47 ± 0.17^d
法式烘焙	深度(法式)	0.32 ± 0.07^d	0.29 ± 0.09^d	0.33 ± 0.08^d
意式烘焙	中深度(意式)	0.21 ± 0.03^d	0.17 ± 0.04^d	0.18 ± 0.03^d

注:不同字母表示烘焙方式间5-HMF具有显著性差异($P<0.05$)。

3 结论

采用QuEChERS净化方法,以乙酸-乙腈溶液为提取剂,氯化钠和乙酸钠为盐析剂, C_{18} 粉、PSA和无水硫酸镁为净化剂,可实现咖啡中5-

HMF的提取、盐析和净化。QuEChERS净化方法最佳试验条件:提取溶剂为1%乙酸-乙腈溶液,盐析剂为3.0 g NaCl+1.0 g NaAc,净化剂为50 mg C_{18} +20 mg PSA+200 mg $MgSO_4$,5-HMF的回收率

$\geq 85.5\%$ 。5-HMF 在 0.5~50.0 mg/L 范围内有良好的线性关系,相关系数(r)为 0.9991,检出限为 0.01 mg/kg,定量限为 0.03 mg/kg,在 10, 20, 50 mg/kg 添加水平的回收率为 85.50%~105.5%,相对标准偏差为 4.28%~7.59%($n=5$)。

烘焙温度 180~240 °C, 随烘焙温度升高,5-HMF 生成量逐渐增加,到 240 °C 时达到峰值,烘焙温度大于 240 °C,急剧下降;烘焙温度为 230 °C,烘焙时间为 6~12 min,5-HMF 生成量随烘焙时间延长而增加,烘焙时间为 12.0 min,5-HMF 生成量达到最大值,烘焙时间大于 12 min,5-HMF 含量显著降低;烘焙程度增加,5-HMF 含量显著降低。小粒咖啡的 5-HMF 随烘焙温度、烘焙时间和烘焙程度的改变,是一个逐渐产生、达到峰值和急剧下降的动态变化过程,通过调整烘焙温度、时间来控制咖啡中 5-HMF 的形成。

参 考 文 献

- [1] KHOCHAPONG W, KETNAWA S, OGAWA Y, et al. Effect of in vitro digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extract[J]. Food Chemistry, 2021(348): 1-6.
- [2] 陈云兰, 陈治华, 蒋快乐, 等. 不同初加工工艺对云南阿拉比卡咖啡品质的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(12): 149-156, 192.
CHEN Y L, CHEN Z H, JIANG K L, et al. Influence of different primary process on the quality of Arabica coffee in Yunnan province[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(12): 149-156, 192.
- [3] 杜萍, 陈振佳, 杨芳, 等. 基于顶空气相色谱-离子迁移谱技术的生咖啡豆快速鉴别方法[J]. 食品科学, 2019, 40(24): 228-233.
DU P, CHEN Z J, YANG F, et al. A rapid method for the discrimination of different varieties of green coffee beans by headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Food Science, 2019, 40(24): 228-233.
- [4] DA SILVA B S R, SANT'ANA G C, CHAVES C L, et al. Population structure and genetic relationships between Ethiopian and Brazilian *Coffea arabica* genotypes revealed by SSR markers [J]. Genetica, 2019, 147(2): 205-216.
- [5] 王瑶, 王晓娜, 张雪辉, 等. 云南小粒咖啡类黑精的抗氧化及减肥功能[J]. 食品科学, 2019, 40(1): 183-189.
WANG Y, WANG X N, ZHANG X H, et al. Antioxidant and antiobesity effects of melanoidins from Yunnan grown Arabica[J]. Food Science, 2019, 40(1): 183-189.
- [6] HAMZALIOĞLU A, GÖKMEN V. 5-Hydroxymethylfurfural accumulation plays a critical role on acrylamide formation in coffee during roasting as confirmed by multiresponse kinetic modelling[J]. Food Chemistry, 2020, 318: 1-10.
- [7] BERTUZZI T, MARTINELLI E, MULAZZI A, et al. Acrylamide determination during an industrial roasting process of coffee and the influence of asparagine and low molecular weight sugars[J]. Food Chemistry, 2020, 303: 1-6.
- [8] BERTUZZI T, MULAZZI A, RASTELLI S, et al. Mitigation measures for acrylamide reduction in dough-based potato snacks during the expansion process by frying[J]. Food Additives and Contaminants Part A, 2018, 35(10): 1940-1947.
- [9] OLIVEROS N O, HERNÁNDEZ J A, SIERRA-ESPINOSA F Z, et al. Experimental study of dynamic porosity and its effects on simulation of the coffee beans roasting[J]. Journal of Food Engineering, 2017, 199: 100-112.
- [10] KANG D E, LEE H U, DAVAATSEREN M, et al. Comparison of acrylamide and furan concentrations, antioxidant activities, and volatile profiles in cold or hot brew coffees[J]. Food Science and Biotechnology, 2020, 29(1): 141-148.
- [11] 金成, 章宇, 陆柏益, 等. 食品中 Maillard 反应伴生化学危害物的形成机制与控制技术研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(9): 170-175.
JIN C, ZHANG Y, LU B Y, et al. Advanced research of formation mechanism and control technology of Maillard reaction derived chemical hazards[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(9): 170-175.
- [12] LOAËC G, JACOLOT P, HELOU C, et al. Acrylamide, 5-hydroxymethylfurfural and N^{ϵ} -carboxymethyl-lysine in coffee substitutes and instant

- coffees [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2014, 31(4): 593–604.
- [13] KOCADAĞLI T, GÖNCÜOĞLU N, HAMZALIOĞLU A, et al. In depth study of acrylamide formation in coffee during roasting: Role of sucrose decomposition and lipid oxidation [J]. *Food Funct*, 2012, 3(9): 970–975.
- [14] HAMZALOLU A, GKEMEN V. 5-Hydroxymethylfurfural accumulation plays a critical role on acrylamide formation in coffee during roasting as confirmed by multiresponse kinetic modelling [J]. *Food Chemistry*, 2020, 318: 126467.
- [15] LACHENMEIER D W, SCHWARZ S, TEIPEL J, et al. Potential antagonistic effects of acrylamide mitigation during coffee roasting on furfuryl alcohol, furan and 5-hydroxymethylfurfural [J]. *Toxics*, 2019, 7(1): 1–13.
- [16] 温超, 王紫梦, 石星波, 等. 食品中丙烯酰胺与 5-羟甲基糠醛的研究进展 [J]. *食品科学*, 2015, 36(13): 257–264.
- WEN C, WANG Z M, SHI X B, et al. A review of acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural in foods [J]. *Food Science*, 2015, 36(13): 257–264.
- [17] CZERWONKA M, OPIKA J, TOKARZ A. Evaluation of 5-hydroxymethylfurfural content in non-alcoholic drinks [J]. *European Food Research and Technology*, 2018, 244(1): 11–18.
- [18] 周康宁, 郑洁, 欧仕益. 3-咖啡酰奎尼酸对水果干燥过程中 HMF 形成和色度的影响 [J]. *食品与机械*, 2019, 35(11): 129–135.
- ZHOU K N, ZHENG J, OU S Y, et al. Effect of 3-O-caffeoylquinic acid on 5-hydroxymethylfurfural formation and color in dried fruits [J]. *Food and Machinery*, 2019, 35(11): 129–135.
- [19] CAPUANO E, FOGLIANO V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural(HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2011, 44(4): 793–810.
- [20] 邵金良, 杨东顺, 樊建麟, 等. 高效液相色谱-紫外双波长同时测定咖啡及咖啡制品中 10 种化合物含量 [J]. *食品科学*, 2016, 37(12): 128–133.
- SHAO J L, YANG D S, FAN J L, et al. Simultaneous determination of 10 polyphenolic and alkaloidal components in coffee and coffee-based products by HPLC-double wavelength UV detection [J]. 2016, 37(12): 128–133.
- [21] 王晓娜, 王松梅, 殷建忠, 等. 不同烘焙程度云南小粒咖啡类黑精中挥发性成分分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(12): 1682–1685.
- WANG X N, WANG S M, YIN J Z, et al. Analyzing volatile components in coffee melanoidins from different roasting-degree Yunnan Arabica coffee melanoidins [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2017, 27(12): 1682–1685.
- [22] 李梦丽, 张付杰, 杨薇, 等. 云南小粒咖啡烘焙工艺优化及总糖含量的测定 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(6): 186–192.
- LI M L, ZHANG F J, YANG W, et al. Optimization of roasting technology and measurement of total sugar contents in Yunnan arabica coffee [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(6): 186–192.
- [23] HU G L, PENG X R, GAO Y, et al. Effect of roasting degree of coffee beans on sensory evaluation: Research from the perspective of major chemical ingredients [J]. *Food Chemistry*, 2020, 331(14): 127329.
- [24] 于淼, 董文江, 胡荣锁, 等. 海南兴隆地区不同烘焙度咖啡豆的滋味特性研究 [J]. *现代食品科技*, 2017, 33(4): 215–221, 175.
- YU M, DONG W J, HU R S, et al. Characterization of taste properties of coffee beans from Xinglong, Hainan province roasted to different degrees [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(4): 215–221, 175.
- [25] OFOSU I W, ANKAR-BREWOO G M, LUTTERODT H E, et al. Estimated daily intake and risk of prevailing acrylamide content of alkalized roasted cocoa beans [J]. *Scientific African*, 2019, 6(3): e00176.
- [26] 朱铭立, 杨黎忠, 张卫峰, 等. 超高效液相色谱-大气压化学电离-串联质谱法测定烘焙咖啡中丙烯酰胺 [J]. *色谱*, 2019, 37(2): 189–193.
- ZHU M L, YANG L Z, ZHANG W F, et al. Determination of acrylamide in coffee by ultra performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(2): 189–193.

- [27] TOLEDO P D, MELO M D, PEZZA H R, et al. Reliable discriminant analysis tool for controlling the roast degree of coffee samples through chemical markers approach[J]. *Journal European Food Research and Technology*, 2017, 243(5): 761–768.
- [28] 江姗姗, 梁恩, 于森, 等. 对-香豆酸和绿原酸对美拉德反应体系中5-HMF形成的影响[J]. *食品科学*, 2012, 33(19): 17–20.
- JIANG S S, LIANG E, YU M, et al. Effects of p-coumaric acid and chlorogenic acid on formation of 5-hydroxymethylfurfural in different Maillard reaction systems[J]. *Food Science*, 2012, 33(19): 17–20.
- [29] DIVIŠ P, POŘÍZKA J, KŘÍKALA J. The effect of coffee beans roasting on its chemical composition[J]. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2019, 13(1): 344–350.
- [30] TRAN V C, 陈贤情, 郭康权, 等. 咖啡生豆及其烘焙程度对生物胺含量的影响[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(3): 183–189.
- TRAN V C, CHEN X Q, GUO K Q, et al. Effect of green and roasting degree for coffee on bioactive amines contents[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(3): 183–189.

Effects of Roasting Degree on Formation of 5-Hydroxymethylfurfural Contents in *Coffea arabica*

Liu Xingyong, Chen Xinglian, Lin Tao, Wang Li, Wang Luxiang, Li Maoxuan, Shao Jinliang*

(*Institute of Agriculture Quality Standards & Testing Technique, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming 650205*)

Abstract A method was developed for the detection of 5-hydroxymethylfurfural in roasting *Coffea arabica* by high performance liquid chromatography combined with liquid-liquid extraction and dispersive solid phase extraction (DSPE). After extracted with 1.0% acetic acid acetonitrile solution with ultrasound assistance, the samples were pretreated with QuEChERS method including extraction salting-out (3.0 g NaCl + 1.0 g NaAc), purification (50 mg C₁₈+20 mg PSA+ 200 mg MgSO₄). The 5-hydroxymethylfurfural was then purified on a Shiseido CAPCELL PAK MG C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5.0 μm), and gradient elution was conducted using methanol and water solution as the mobile phases. Under the optimum conditions, the calibration curves of the 5-hydroxymethylfurfural showed good linearity ($r=0.9991$) within their respective linear ranges. The limits of quantification (LOQs) and limits of detection (LODs) was 0.01 mg/kg ($S/N=10$) and 0.03 mg/kg ($S/N=3$). The recoveries were in the range of 85.50%–105.5% at three spiked levels, with relative standard deviations of 4.28%–7.59% ($n=5$). The results showed that roasting temperature, time and degree play an important role in the 5-HMF content of the final *Coffea arabica* product.

Keywords *Coffea arabica*; roasting degree; Maillard reaction systems; 5-hydroxymethylfurfural