

Для цитирования: Аналитика и контроль. 2018. Т. 22, № 2. С. 197-205

УДК 543.545:663.93

DOI: 10.15826/analitika.2018.22.2.008

Электрофоретическое определение соединений фенольной природы в растворимом кофе

*Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко, О.Б. Воронова

Кубанский государственный университет,
Российская Федерация, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, 149

*Адрес для переписки: Тищенко Екатерина Александровна, e-mail: ekaterina-pydyk@mail.ru

Поступила в редакцию 25 апреля 2018 г., после доработки – 15 мая 2018 г.

В данной работе обсуждена важность определения фенольных компонентов в растворимом кофе для оценки его качества. Особое внимание уделено компонентам «природного» и «технологического» происхождения, в качестве которых рассмотрены кофеилхиновые кислоты (КХК) и катехол (КТ). Выбраны условия одновременного определения КХК и КТ в образцах растворимого кофе методом капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ). Разделение фенольных соединений проведено в среде боратного буфера (40 мМ, pH 9.5) при наложении напряжения +25 кВ на входной конец капилляра (60.5 (52) см × 50 мкм). В рамках рассматриваемой методики предложено суммарное определение изомеров КХК методом КЗЭ. Правильность определения оценена способами «введено-найденно» ($\Delta_{\text{отн}} = 7\%$) и сравнением результатов анализа с результатами, полученными независимым методом, в качестве которого применяли метод ВЭЖХ-УФ ($\Delta_{\text{отн}} = 4\%$). Для обоснования «технологической» природы образования КТ в исследуемом продукте проанализированы образцы молотого зеленого и жареного кофе разной степени обжаривания, а также образцы растворимого кофе на содержание в них КХК и КТ электрофоретическим методом. Содержание КХК и КТ в образцах растворимого кофе варьируются в диапазонах 9-55 и 0.40-0.85 мг/г соответственно. Показано, что с увеличением степени обжаривания кофе наблюдается изменение содержания компонентов в образцах жареного молотого кофе: уменьшение КХК и увеличение КТ. Для образцов растворимого кофе установлена обратная корреляция ($r_{\text{расч}} = 0.80$; $r_{\text{табл}} = 0.40$; $n = 24$) между содержаниями КХК и КТ, а также положительная корреляция ($r_{\text{расч}} = 0.68$; $r_{\text{табл}} = 0.51$; $n = 15$) между содержанием КТ и индексом обжарки кофе. Это в совокупности подтверждает «технологическую» природу образования катехола в исследуемом продукте.

Ключевые слова: капиллярный зонный электрофорез, ВЭЖХ-УФ, фенольные соединения, кофеилхиновые кислоты, катехол, кофе

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2018, vol. 22, no. 2, pp. 197-205

DOI: 10.15826/analitika.2018.22.2.008

Electrophoretic determination of phenolic compounds in instant coffee

*Е.А. Tishchenko, Т.Г. Tsiupko, О.Б. Voronova

Kuban State University, Stavropolskaia ul., 149, Krasnodar, 350040, Russian Federation

*Corresponding author: Ekaterina A. Tishchenko, e-mail: ekaterina-pydyk@mail.ru

Submitted 25 April 2018, received in revised form 15 May 2018

In the current paper, the importance of determination of phenolic compounds in the instant coffee for the coffee's quality evaluation was discussed. Particular attention was paid to the components of "natural" and "technological" origin such as caffeoylquinic acids (CQA) and catechol (C) respectively. The conditions for the simultaneous determination of CQA and C in the instant coffee samples by the capillary zone electrophoresis (KZE) method were chosen. The separation of phenolic compounds was carried out in the borate buffer (40 mM, pH 9.5) with the voltage of +25 kV applied to the capillary inlet (60.5 (52) cm × 50 μm). The summary determination of the CQA isomers by the KZE method was proposed. The accuracy was estimated by spiked samples (the relative error was 4 %) and by comparison of the analysis results with the results obtained by

an independent HPLC-UV method (the relative error was 7 %). To substantiate the “technological” nature of the catechol formation in the investigated product, the ground green and roasted coffee samples of varying roasting degrees, as well as instant coffee samples, were analyzed by the electrophoretic method. The CQA and C contents in the instant coffee samples were in the ranges of 9-55 and 0.40-0.85 mg / g, respectively. It was shown that increasing the coffee roasting degree leads to the decrease of CQA content and increase of C content in the ground roasted coffee samples. For the instant coffee samples, the inverse correlation between the CQA and C contents ($r_{\text{calcul}} = 0.80$; $r_{\text{tab}} = 0.40$; $n = 24$), and the positive correlation between the C content and the roasting index ($r_{\text{calcul}} = 0.68$; $r_{\text{tab}} = 0.51$; $n = 15$) were established. This combination of facts confirmed the “technological” nature of the studied compound formation.

Keywords: capillary zone electrophoresis, HPLC-UV, phenolic compounds, caffeoylquinic acids, catechol, coffee.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из широко потребляемых напитков растительного происхождения на сегодняшний день является растворимый кофе. Сухой пищевой продукт получают из жареного кофе физическими методами с использованием в качестве экстрагента воды [1]. В таком продукте сконцентрированы водорастворимые компоненты жареных зерен, которые, с одной стороны, сформировались в зеленом кофе и сохранились в процессе его обжаривания («природные»), с другой, образовались из «природных» малоустойчивых соединений на этапах производства продукта («технологические»).

Определение некоторых «природных» компонентов растворимого кофе важно для контроля его качества. Так, по содержанию кофеина в продукте судят о степени его натуральности, а концентрационный уровень углеводов (глюкозы и ксилозы) является критерием при обнаружении фальсификации [1, 2]. Не менее важным для оценки качества растворимого кофе может являться содержание фенольных соединений, концентрация которых в зеленых зернах варьируется в зависимости от географических и климатических условий произрастания, а также сортовых особенностей кофе. Данная группа веществ обуславливает полезные свойства продукта (антиоксидантные, фармакологические и

др.) и участвует в формировании органолептических характеристик кофе, в частности, вкусовых: терпкость и кислотность [2].

Известно, что основные фенольные соединения (кофейная, феруловая и другие гидроксикоричные кислоты) содержатся в кофе преимущественно в связанном состоянии с хинной кислотой. В совокупности их называют хлорогеновыми кислотами (ХГК), а возможные изомерные формы ХГК классифицируют в группы кофеилхинных (КХК), ферулоилхинных и дикофеилхинных кислот. Так, основная группа КХК в кофе представлена преимущественно 5-О-кофеилхинной (5-О-КХК), 4-О-кофеилхинной (4-О-КХК) и 3-О-кофеилхинной (3-О-КХК) кислотами (рис. 1) [3]. Несмотря на то, что изомеры ХГК значительно разрушаются в процессе обжаривания зерен [4, 5], их содержание в растворимом кофе остается существенным и составляет 4-9 % [4, 6, 7].

Некоторые компоненты, образованные в процессе производства растворимого кофе, играют важную роль в формировании аромата, вкуса и цвета готового продукта. Так, например, пережаренный кофе имеет иные органолептические характеристики, нежели продукт, изготовленный с соблюдением технологии и рецептуры. Вклад в горький вкус напитка вносят фурановые соединения, ди- и тригидроксифенолы [8], а меланоидины обеспечивают ему коричневый цвет [9]. «Технологические» компоненты кофе могут также обладать полезными свойствами. Известно, что гидроксифенолы, например, катехол (КТ) [10] и меланоидины [11, 12] обладают антиоксидантными свойствами.

Целью данной работы являлась оценка возможности одновременного определения кофеилхинных кислот и катехола в растворимом кофе и установление взаимосвязи между содержаниями изучаемых «природных» и «технологических» компонентов в продукте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Реагенты и растворители. Объектами исследования являлись некоторые изомеры хлорогеновых кислот, образцы растворимого кофе разных коммерческих наименований и любезно предоставленные ООО «Нестле Кубань» образцы зеленого

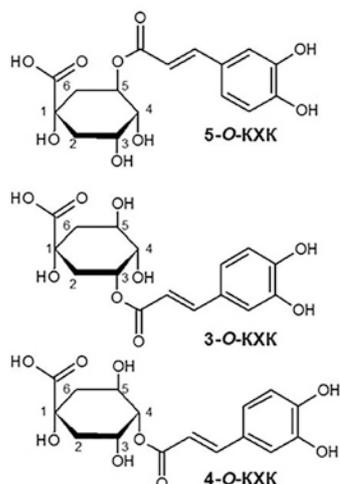


Рис. 1. Структурные формулы основных кофеилхинных кислот

Fig. 1. Structural formulas of main caffeoylquinic acids

и жареного кофе Робуста (Вьетнам) разной степени обжаривания: сильной – СТп 80, средней – СТп 100 и слабой – СТп 120, где СТп (Color Test number) – эмпирическая величина, характеризующая степень обжаривания кофе.

Исследования проводили с использованием следующих реактивов: катехол ($\geq 99\%$, Acros Organics), метанол («х.ч.», Вектон), муравьиная кислота (85% , Вектон), борная кислота («х.ч.», Нева-Реактив), гидроксид натрия («х.ч.», Вектон) и изомеры ХГК: хлорогеновая кислота ($\geq 95\%$, Aldrich) и неохлорогеновая кислота ($\geq 98\%$, Sigma). Во избежание разногласия с работами других авторов, в дальнейшем по тексту статьи использовали названия изомеров ХГК согласно рекомендованной ИЮПАК нумерации атомов углерода в циклогексановом кольце: против часовой стрелки [13-15], несмотря на применение производителями Sigma и Aldrich нумерации по часовой стрелке. Т.е. для хлорогеновой кислоты, называемой производителем 3-О-кофеилхинная кислота, использовали название 5-О-кофеилхинная кислота, а для неохлорогеновой кислоты (5-О-кофеилхинная кислота) – 3-О-кофеилхинная кислота.

Приготовление стандартных веществ и образцов кофе. Приготовление основных растворов кофеилхинных кислот и катехола осуществляли путем растворения их точных навесок в бидистиллированной воде, а растворы с необходимой концентрацией стандартных веществ готовили путем разбавления основных растворов в бидистиллированной воде. Для электрофоретического анализа к пробе молотого кофе массой 10.0 г добавляли 80-90 мл бидистиллированной воды, кипятили смесь на водяной бане в течение 5 минут, экстракт охлаждали, пропускали через бумажный фильтр, затем доводили объем до 100 мл водой. Пробы растворимого кофе готовили растворением в горячей воде (80-90 мл) навески продукта массой 0.2-0.8 г, затем раствор охлаждали и доводили объем до 100 мл водой. Таким образом для каждого образца готовили три пробы, каждую из которых анализировали три раза. Все пробы перед вводом в капилляр фильтровали через фильтр с диаметром пор 0.22 мкм. Подготовку стандартных веществ и образцов кофе для хроматографического определения КХК проводили согласно методике, описанной в работе [16].

Условия электрофоретического определения. Разделение компонентов фенольной природы в образцах кофе и модельных растворах проводили с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent^{3D} CE G1600A, оснащенной немодифицированным кварцевым капилляром (60.5 (52) см × 50 мкм) с уширенной световой частью (×3). В качестве электролита использовали боратный буфер с рН 9.5 (40 мМ), приготовленный из борной кислоты и гидроксида натрия. Ввод пробы осуществляли в

течение 6 с при давлении 50 мбар. Анализ проводили при напряжении +25 кВ и температуре 25 °С. Перед началом работы капилляр последовательно промывали по 10 минут водой, 1 М NaOH, водой; перед анализом пробы – 3 минуты 0.1 М NaOH, 3 минуты рабочим буфером, затем – 3 минуты водой. Детектирование КХК проводили при длине волны 324 нм, а КТ – при 210 нм. Сбор и обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Chemstation. Аналитическим сигналом (АС) служила площадь пика (mAU·s) на электрофореграмме. Содержание КХК и КТ в образцах растворимого кофе определяли методом градуировочного графика. При расчете содержания КХК использовали градуировочный график, построенный относительно 5-О-КХК.

Хроматографическое определение изомеров кофеилхинных кислот. Хроматографическое разделение и идентификацию кофеилхинных кислот в растворимом кофе проводили методом ВЭЖХ-УФ-МС в условиях, подробно описанных в работе [16]. Расчет содержания индивидуально-го изомера КХК проводили относительно 5-О-КХК по формуле:

$$C_x = \frac{\varepsilon_5 \cdot M_x \cdot S_x}{\varepsilon_x \cdot M_5 \cdot a_5}$$

где ε_5 и ε_x – молярные коэффициенты поглощения 5-О-КХК и искомого изомера, л·моль⁻¹·см⁻¹; M_5 и M_x – молярные массы 5-О-КХК и искомого изомера, г·моль⁻¹; S_x – площадь пика искомого изомера, mAU·s; α_5 – коэффициент наклона градуировочной прямой, построенной по 5-О-КХК. Величины ε взяты из литературных данных [6] и составляли для 3-О-КХК, 4-О-КХК и 5-О-КХК 1.80, 1.84 и 1.95 л·моль⁻¹·см⁻¹ соответственно. Для других изомеров КХК расчет содержаний проводили, используя усредненное значение приведенных величин (1.86 л·моль⁻¹·см⁻¹).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электрофоретическое разделение фенольных соединений растворимого кофе. Одновременное определение кофеилхинных кислот и катехола проводили методом капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ) в среде боратного буфера. Использование этого буфера в качестве электролита повышает селективность разделения определяемых соединений фенольной природы и других компонентов пробы за счет образования отрицательно заряженного комплекса между борат-ионом и фенольным соединением, содержащем ортогидрокси-группы [17].

Варьирование величин рН (9.3-9.6) и концентрации буфера $C_{\text{буф}}$ (30-70 мМ), а также напряжения в системе U (20-30 кВ) в ходе электрофоретического анализа водного раствора растворимого кофе показало, что увеличение значений изучаемых параметров приводит к улучшению разрешения между пиками аналитов и компонентами матрицы.

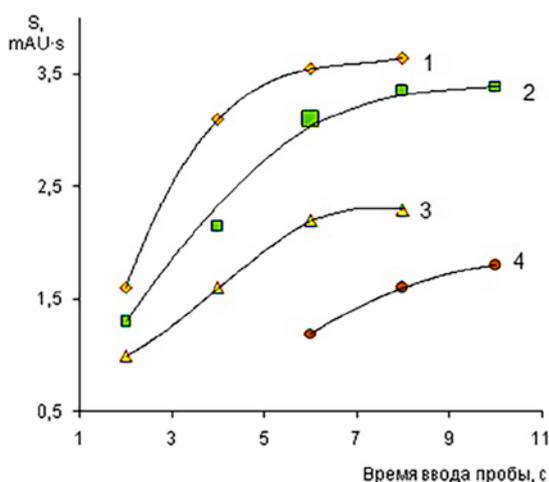


Рис. 2. Зависимости площади пика катехола от времени ввода пробы для растворов с содержанием растворимого кофе 0.8 (1), 0.6 (2), 0.4 (3) и 0.2 (4) г на 100 мл бидистиллированной воды

Fig. 2. Dependences of the catechol peak area from the sample injection time for solutions with instant coffee content of 0.8 (1), 0.6 (2), 0.4 (3) and 0.2 (4) g per 100 ml double distilled water

Пик катехола, детектируемый при 210 нм с разрешением $R > 2$, наблюдается на электрофореграмме образца, полученной с применением буферной системы с pH 9.5 и концентрацией 40 мМ при напряжении равном 25 кВ. Важно отметить, что в этих условиях на электрофореграмме пробы кофе при 324 нм детектируются два основных пика, соответствующие по временам миграции и спектральным характеристикам двум мажорным изомерам КХК – 5-О-КХК и 3-О-КХК.

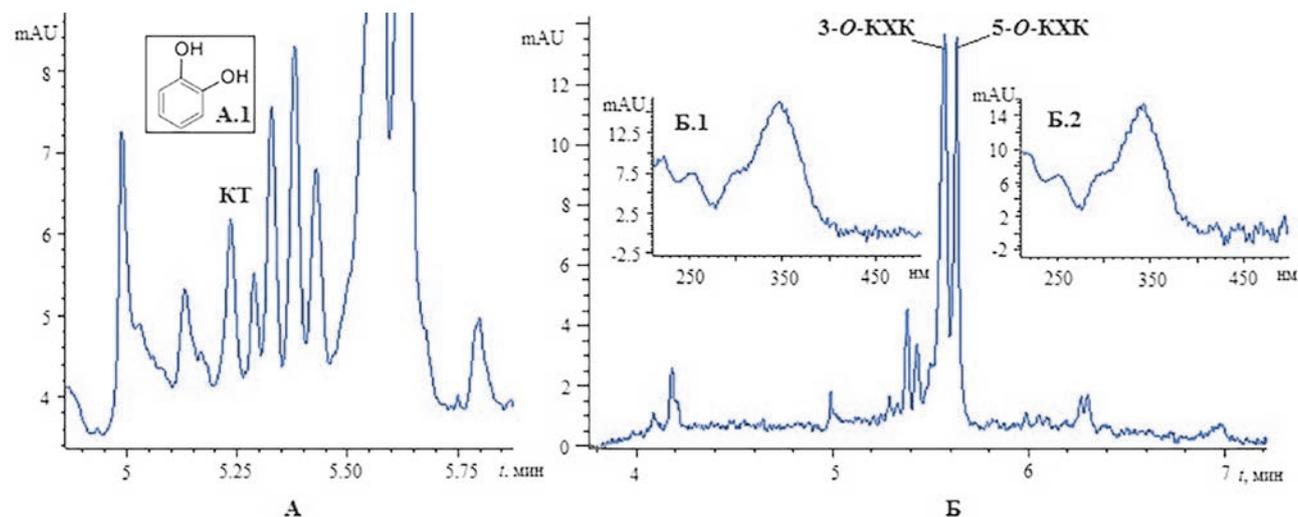


Рис. 3. Электрофореграммы раствора растворимого кофе «Nescafe Classic», зарегистрированные при длине волны 210 (А) и 324 (Б) нм, и спектры, соответствующие первому (Б.1) и второму (Б.2) основным пикам; структурная формула катехола (А.1). Условия: проба: раствор 0.6 г кофе в 100 мл воды; ввод пробы: 6 с × 50 мбар; электролит: боратный буфер 40 мМ, pH 9.5; условия разделения: $U = +25$ кВ, $t = 25$ °С

Fig. 3. Electropherograms of “Nescafe Classic” instant coffee solution registered at wavelengths of 210 (A) and 324 (B) nm, and spectra corresponding to the first (B.1) and second (B.2) main peaks; structural formula of catechol (A.1). Conditions: sample: solution 0.6 g of coffee in 100 ml of water; injection: 6 s × 50 mbar; electrolyte: borate buffer 40 mM, pH 9.5; separation conditions: $U = +25$ kV, $t = 25$ °C

Таблица 1

Оценка правильности электрофоретического определения катехола

Table 1

Accuracy evaluation of the catechol electrophoretic determination

Проба	Концентрация добавки, мкг/мл		$\Delta_{\text{отн}}, \%$
	введено	найдено	
Модельный раствор	1.8	1.7	5.6
	3.0	2.9	3.3
	15.0	14.2	5.3
Растворимый кофе	2.6	2.4	7.7
	3.2	3.0	6.3
	3.6	3.8	5.6

При выборе количества вводимой в капилляр пробы руководствовались соблюдением условий: проба должна быть приготовлена таким образом, чтобы не возникла трудность при ее фильтрации, а величина площади пика минорного компонента – КТ должна быть достаточна для его определения. Варьируя массу навески кофе в диапазоне 0.2-0.8 г (на 100 мл воды), а время ввода пробы от 2 до 10 секунд при постоянном давлении 50 мбар, выбрали в качестве оптимальных следующие значения параметров: 0.6 г и 6 с (рис. 2). Полученные в выбранных условиях электрофореграммы раствора растворимого кофе представлены на рис. 3.

Для оценки содержания КТ в пробе получена градуировочная зависимость в диапазоне от 1 до 16 мкг/мл, коэффициент корреляции составил величину 0.99. Оценку правильности определения КТ проводили методом «введено-найдено» на мо-

дельных растворах и образце растворимого кофе. Относительная погрешность в обоих случаях не превышала 8 % (табл. 1).

Суммарное определение кофеилхиновых кислот в растворимом кофе методом КЗЭ. Оценка правильности определения КХК. Кофеилхиновые кислоты в растворимом кофе содержатся преимущественно в форме трех изомеров: 5-О-КХК, 3-О-КХК и 4-О-КХК [6, 18, 5], а их содержание по отношению к хлорогеновым кислотам в среднем составляет 27, 16 и 15 % соответственно [5]. В выбранных нами условиях одновременного определения катехола и кофеилхиновых кислот последняя группа детектируется в виде двух пиков. На электрофореграмме раствора кофе (рис. 3, Б) не найдено других сигналов, соответствующих по спектральным характеристикам стандартам этих кислот. Увеличение концентрации буфера приводит к незначительному расщеплению первого пика КХК, что дает основание предположить возможность миграции 4-О-КХК в одной зоне с 3-О-КХК. Поскольку окончательного разделения этих изомеров в рамках КЗЭ достичь не удалось, то рассмотрели возможность определения КХК по суммарной площади двух пиков, регистрируемых на электрофореграмме при времени 5.58 и 5.62 минуты (рис. 3, Б).

Из литературных данных известно, что коэффициенты экстинкции (ϵ) для 3-О-КХК, 4-О-КХК и 5-О-КХК имеют близкие значения [6]. Из построенных зависимостей АС от концентрации индивидуальных изомеров 5-О-КХК, 3-О-КХК и их смеси в соотношении 1 : 1 видно, что тангенсы наклона графиков отличаются незначительно и равны 0.50, 0.52 и 0.51 соответственно (рис. 4). Поэтому расчет суммарного содержания КХК в растворимом кофе проводили относительно преобладающего изомера в продукте – 5-О-КХК.

Оценка правильности определения КХК на модельных растворах и растворах растворимого кофе с введенной добавкой изомеров КХК в разных соотношениях показала, что относительная по-

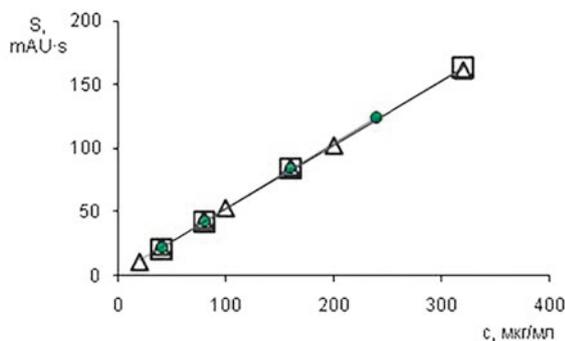


Рис. 4. Зависимости площади пика от концентрации 3-О-КХК (●), 5-О-КХК (▲) и их смеси (□)

Fig. 4. Dependences of the peak area from the content of 3-O-CQA (●), 5-O-CQA (▲) and their mixtures (□)

Таблица 2

Оценка правильности электрофоретического определения суммарного содержания кофеилхиновых кислот

Table 2

Accuracy evaluation of the caffeoylquinic acids total content electrophoretic determination

Проба	Концентрация добавки, мкг/мл			$\Delta_{\text{отн}}, \%$
	3-О-КХК	5-О-КХК	3-О-КХК + 5-О-КХК	
	введено		найдено	
Модельный раствор	40	40	85	6.5
	40	60	102	2.0
	20	40	59	1.5
Растворимый кофе	40	20	62	3.3
	40	40	85	6.5
	80	80	156	2.7
	120	120	245	2.0

грешность определения в обоих случаях не превышала 7 % (табл. 2).

Правильность электрофоретического определения суммарного содержания КХК в растворимом кофе проводили также с применением референтного метода, в качестве которого был выбран метод ВЭЖХ-УФ-МС. Его выбор обусловлен возможностью эффективного разделения большого числа изомеров ХГК и их надежной идентификацией.

Методом ВЭЖХ-УФ-МС, по разработанной нами ранее методике [16], проанализировано несколько образцов растворимого кофе. В каждом из них идентифицировано три мажорных изомера КХК: 5-О-КХК, 4-О-КХК и 3-О-КХК и три минорных. Расчет содержания индивидуальных изомеров в кофе проводили относительно 5-О-КХК (как и в методе КЗЭ) с учетом коэффициентов экстинкции кислот, взятых из литературных данных [6]. Как показано в работе [19], использование стандарта 5-О-КХК для хроматографического определения других изомеров хлорогеновых кислот не приводит к возникновению существенной погрешности определения 4-О-КХК и 3-О-КХК в образцах зеленого кофе.

Проведен сопоставительный анализ суммарного содержания КХК, полученного методом КЗЭ, и суммы содержаний трех мажорных изомеров, рассчитанной по данным ВЭЖХ-УФ анализа (табл. 3), предполагая, что по разработанной нами методике суммарный сигнал формируется только под действием этих кислот. В этом случае, для всех образцов получили значения содержаний, завышенные в среднем на 9 % относительно суммы концентраций трех изомеров. Как видно из табл. 3, минорные КХК составляют в среднем 11 % от содержания всех рассматриваемых изомеров. Электрофоретическое поведение мажорных и минорных КХК, вероятно, несущественно отличается, что может приводить к формированию суммарного электрофоретического сигнала. Аналогичное сравнение данных, полученных по расчетам с использовани-

Таблица 3

Результаты определений КХК в образцах растворимого кофе различными методами

Table 3

CQA determination results in the instant coffee samples by various methods

Наименование образца	ВЭЖХ		КЗЭ		
	Сумма содержаний КХК, мг/г		Суммарное содержание КХК, мг/г	Δ, % относительно	
	трех изомеров (C ₃)	шести изомеров (C ₆)		C ₃	C ₆
Якобс Монарх	11.7	13.7	13.3 ± 0,8	13.7	2.9
Grand Classic	19.4	22.1	21.0 ± 1,1	8.2	5.0
Жардин Колумбия Меделлин	21.7	25.3	23.7 ± 1,6	9,2	6.3
Московская кофейня на паяхъ. Арабика	52.6	56.5	54.8 ± 2,3	4.3	3.0

ем суммы содержаний шести изомеров (определение ВЭЖХ-УФ), показало, что расхождение между сравниваемыми величинами в среднем составляет 4 %. Вероятно, формируемый сигнал может считаться суммарным.

Таким образом, суммарное содержание кофеилхинных кислот, полученное предложенным нами электрофоретическим методом с учетом погрешности определения (± 6 %), соответствует сумме содержаний шести изомеров КХК, рассчитанной по данным ВЭЖХ-УФ анализа.

Обоснование «технологической» природы образования катехола в растворимом кофе. Кофеилхинные кислоты и катехол относятся к классу фенольных компонентов, однако, «природа» их возникновения в растворимом кофе различна. Источник КХК – зеленые зерна, температурное воздействие на которые вызывает частичное разрушение этих компонентов на низкомолекулярные соединения. При этом возможно образование КТ как из хинной, так и из кофейной частей КХК [20]. Известно, что КТ может также образовываться в результате реакции Майяра [20], формирующей в процессе

обжаривания зерен высокомолекулярные коричневые полимеры – меланоидины [21]. Для обоснования «технологической» природы образования КТ в образцах кофе определены содержания КХК и КТ электрофоретическим методом, а также индекс обжарки, который, как известно [22, 23], характеризует содержание меланоидинов в продукте.

Предварительно проведен электрофоретический анализ на содержание КХК и КТ в образцах молотого зеленого и жареного кофе разной степени обжаривания: слабой (СТп 120), средней (СТп 100) и сильной (СТп 80). Показано (рис. 5), что содержание КХК в образцах кофе значительно уменьшается в зависимости от степени обжаривания. Для сильно обжаренных образцов уровень деградации этих кислот достигает 70 %. Обратная картина наблюдается для КТ, который не был обнаружен в зеленом и слабо обжаренном кофе, в то время как его значительное количество определено в образце со степенью обжаривания СТп 80. Таким образом, с увеличением степени обжаривания кофе наблюдается изменение содержания компонентов в образцах жареного молотого кофе: уменьшение КХК и увеличение КТ.

Экстрагируемые в процессе производства растворимого кофе из молотых жареных зерен компоненты концентрируются во время высушивания экстракта. Дополнительные температурные воздействия на этапах экстракции и сушки могут также оказывать влияние на содержание изучаемых компонентов в готовом продукте. Анализ данных, полученных в результате электрофоретического определения КТ и ХГК в образцах порошкообразного, гранулированного и сублимированного растворимого кофе, показал, что их содержания варьируются в диапазонах 9–55 и 0.40-0.85 мг/г соответственно (рис. 6). Способ высушивания кофейного экстракта (распыление, агломерация, сублимация), вероятно, не оказывает существенного влияния на содержание этих компонентов. Однако видно, что образцы с низким содержанием кислот имеют высокое содержание КТ, в то время как в образце «Арабика»

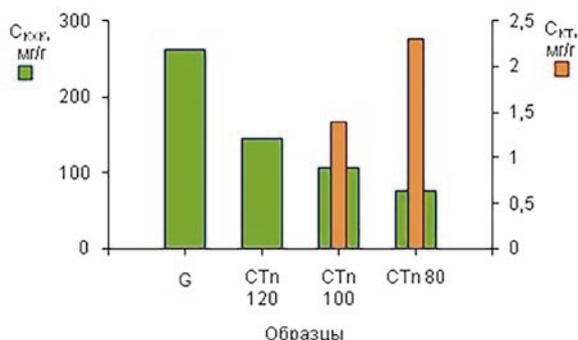


Рис. 5. Содержания КХК (■) и КТ (■) в образцах молотого зеленого (G) и жареного кофе разной степени обжарки

Fig. 5. CQA (■) and C (■) contents in the ground green (G) and roasted coffee samples of varying roasting degrees

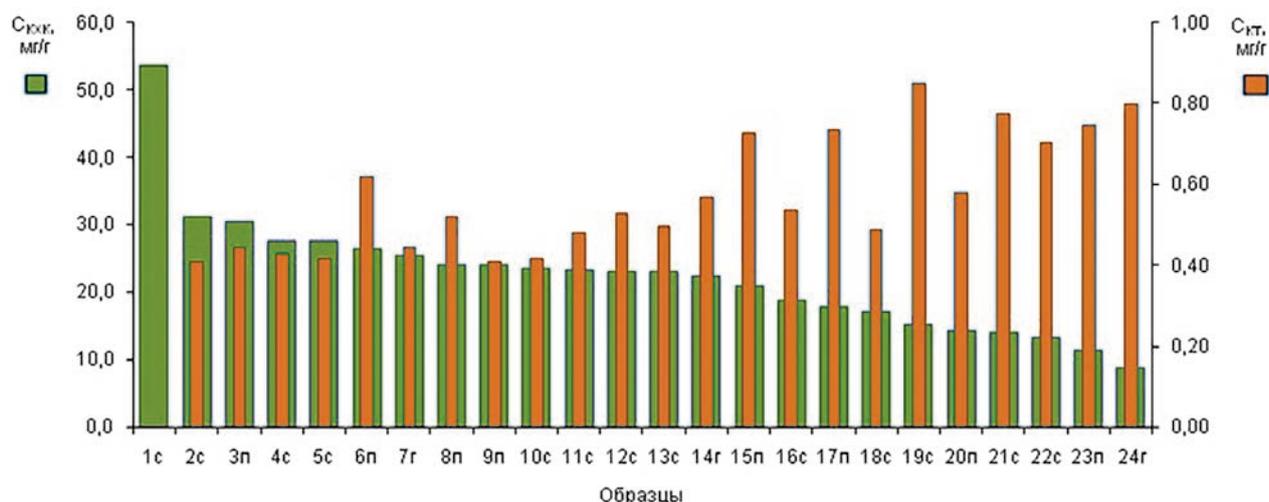


Рис. 6. Содержания КХК (■) и КТ (■) в образцах растворимого кофе

Fig. 6. CQA (■) and C (■) contents in instant coffee samples

(«Московская кофейня на паях»), содержащем максимальное количество КХК, этот компонент не был обнаружен. То есть, между содержаниями КХК и КТ в образцах растворимого кофе наблюдается отрицательная корреляция ($r_{\text{расч}} = 0.80$; $r_{\text{табл}} = 0.40$; $n = 24$). Наоборот, положительная корреляция ($r_{\text{расч}} = 0.68$; $r_{\text{табл}} = 0.51$; $n = 15$) установлена между содержанием КТ и индексом обжарки, полученным согласно методике [24]. Таким образом, производственные факторы, вероятнее всего – параметры обжаривания зерен, оказывают существенное влияние на содержание КТ, поэтому данный компонент может служить показателем качества растворимого кофе, характеризующим технологические особенности его производства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выбраны условия одновременного определения катехола и кофеилхинных кислот в образцах растворимого кофе методом КЗЭ. Анализ данных показал, что суммарное содержание кофеилхинных кислот, полученное электрофоретическим методом, и сумма содержаний шести изомеров КХК, рассчитанная по данным ВЭЖХ-УФ анализа, согласуются. Это подтверждает возможность определения суммарного содержания КХК по разработанной методике.

Определены содержания КХК и КТ в различных образцах растворимого кофе, которые варьируются в диапазонах 9-55 и 0.40-0.85 мг/г соответственно. Показано, что с увеличением степени обжаривания кофе наблюдается изменение содержания компонентов в образцах жареного молотого кофе: уменьшение КХК и увеличение КТ. Для образцов растворимого кофе установлена обратная корреляция ($r_{\text{расч}} = 0.80$; $r_{\text{табл}} = 0.40$; $n = 24$) между содержаниями КХК и КТ, а также положительная корреляция ($r_{\text{расч}} = 0.68$; $r_{\text{табл}} = 0.51$; $n = 15$) между содержанием КТ и индексом обжарки кофе. Это в со-

вокупности подтверждает «технологическую» природу образования катехола в растворимом кофе.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование проводилось при финансовой поддержке РФФИ (грант №17-03-01254) с использованием научного оборудования ЦКП «Эколого-аналитический центр» Кубанского госуниверситета, уникальный идентификатор RFMEFI59317X0008.

ACKNOWLEDGEMENTS

Current work was financially supported by RFBR (grant 17-03-01254) with the use of the scientific equipment of the «Environmental Analysis» Center of Collective Use of the Kuban State University, unique identifier RFMEFI59317X0008.

ЛИТЕРАТУРА

- ГОСТ 32776-2014. Кофе растворимый. Общие технические условия. М., 2014. 16 с.
- Блинникова О.М. Товароведение и экспертиза вкусовых товаров: учеб. пособие. Мичуринск.: МичГАУ, 2007. 234 с.
- Farah A. Coffee Constituents // Coffee: emerging health effects and disease prevention / ed. by Yi-Fang Chu. Wiley-Blackwell. 2012. Ch. 2. P. 21-58.
- Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages / D.P. Moreira [et al.] // J. Agric. Food Chem. 2005. V. 53, № 5. P. 1399-1402.
- The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee / C.E. Mills [et al.] // Food Chem. 2013. V. 141, № 15. P. 3335-3340.
- Trugo L.C., Macrae R. Chlorogenic acid composition of instant coffees // Analyst. 1984. V. 109. P. 263-266.
- Instant coffee with high chlorogenic acid levels protects humans against oxidative damage of macromolecules / C. Hoelzl [et al.] // Mol. Nutr. Food Res. 2010. V. 54. P. 1722-1733.
- Kreppenhof S., Frank O., Hofmann T. Identification of (furan-2-yl)methylated benzene diols and triols as a novel

class of bitter compounds in roasted coffee // *Food Chem.* 2011. V. 126, № 2. P. 441-449.

9. Нечаев А.П., Траубенберг С.Е., Кочеткова А.А. Пищевая химия. СПб.: ГИОРД, 2003. 640 с.

10. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов с использованием индикаторной системы на основе фенантролиновых комплексов железа / Т.Г. Цюпко [и др.] // *Известия вузов. Пищевая технология.* 2011. № 5-6. С. 84-87.

11. Cammerer B., Kroh L.W. Antioxidant activity of coffee brews // *Eur. Food Res. Technol.* 2006. V. 223. P. 469-474.

12. Delgado-Andrade C., Morales F.J. Unraveling the contribution of melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews // *J. Agric. Food Chem.* 2005. V. 53, № 5. P. 1403-1407.

13. IUPAC. Nomenclature of cyclitols // *Biochem J.* 1976. № 153. P. 23-31.

14. Unremitting problems with chlorogenic acid nomenclature: a review / D. Kremr [et al.] // *Quim. Nova.* 2016. V. 39, № 4. P. 530-536.

15. Farah A., Donangelo C. M. Phenolic compounds in coffee // *Braz. J. Plant Physiol.* 2006. V. 18, № 1. P. 12-25.

16. Идентификация и хроматографическое определение биоактивных компонентов в образцах растворимого кофе / Е.А. Тищенко [и др.] // *Аналитика и контроль.* 2017. Т. 21, № 3. С. 251-261.

17. Lorand J.P., Edwards J.E. Polyol complexes and structure of the benzene boronate ion // *Int. J. Curr. Res. Chem. Pharma. Sci.* 1959. V.24. P. 769-774.

18. Сычев К., Стыскин И. Анализ полифенольных соединений кофе и чая в условиях гидрофильного режима ВЭЖХ // *Аналитика.* 2015. Т. 4, № 5. С. 56-61.

19. Simultaneous determination of chlorogenic acids in green coffee bean extracts with effective relative response factors / Y. Shan [et al.] // *International Journal of Food Properties.* 2017. V. 20. P. 2028-2030.

20. Muller C., Lang R., Hofmann T. Quantitative precursor studies on di- and trihydroxybenzene formation during coffee roasting using "in bean" model experiments and stable isotope dilution analysis // *J. Agric. Food Chem.* 2006. V. 54, № 26. P. 10086-10091.

21. Wang H-Y., Qian H., Yao W-R. Review. Melanoidins produced by the Maillard reaction: structure and biological activity // *Food Chem.* 2011. V. 128, P. 573-584.

22. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee / J. Bravo [et al.] // *Food Research International.* 2013. V. 50. P. 610-616.

23. Rodrigues, N.P., Bragagnolo N. Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC-DAD-MSⁿ // *Journal of Food Composition and Analysis.* 2013. V. 32. P. 105-115.

24. Цюпко Т.Г., Тищенко Е.А., Воронова О.Б. Спектрофотометрическая оценка железовосстанавливающей способности растворимого кофе // *Аналитика и контроль.* 2016. Т. 20, № 4. С. 320-329.

REFERENCES

1. GOST 32776-2014. *Kofe rastvorimyi. Obshchie tekhnicheskie usloviia* [Instant coffee. General specifications]. Moscow, Standartinform Publ., 2014. 16 p. (in Russian).

2. Blinnikova O.M. *Tovarovedenie i ekspertiza vkusovykh tovarov: uchebnoe posobie* [Commodity and examination of goods flavor: training manual]. Michurinsk, MichGAU Publ., 2007. 234 p. (in Russian).

3. Farah A. Coffee Constituent. *Coffee: emerging health effects and disease prevention*, edited by Yi-Fang Chu. Wiley-Blackwell, 2012, ch. 2, pp. 21-58. doi: 10.1002/9781119949893.ch2.

4. Moreira D.P., Monteiro M.C., Ribeiro-Alves M., Donangelo C.M., Trugo L.C. Contribution of chlorogenic acids to the iron-reducing activity of coffee beverages. *J. Agric. Food Chem.* 2005, vol. 53, no. 5, pp. 1399-1402. doi: 10.1021/jf0485436.

5. Mills C.E., Oruna-Concha M.J., Mottram D.S., Gibson G.R., Spencer J.P.E. The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee. *Food Chem.* 2013, vol. 141, no. 15, pp. 3335-3340. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.06.014.

6. Trugo L.C., Macrae R. Chlorogenic acid composition of instant coffees. *Analyst*, 1984, vol. 109, pp.263-266. doi: 10.1039 / AN9840900263.

7. Hoelzl C., Knasmüller S., Wagner K.H., Elbling L., Huber W., Kager N., Ferk F., Ehrlich V., Nersisyan A., Neubauer O., Desmarchelier A., Marin-Kuan M., Delatour T., Verguet C., Bezencon C., Besson A., Grathwohl D., Simic T., Kundi M., Schilter B., Cavin C. Instant coffee with high chlorogenic acid levels protects humans against oxidative damage of macromolecules. *Mol. Nutr. Food Res.* 2010, vol. 54, pp. 1722-1733. doi: 10.1002/mnfr.201000048.

8. Kreppenhof S., Frank O., Hofmann T. Identification of (furan-2-yl)methylated benzene diols and triols as a novel class of bitter compounds in roasted coffee. *Food Chem.* 2011, vol. 126, no. 2, pp. 441-449. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.008.

9. Nechaev A.P., Traubenberg S.E., Kochetkova A.A. *Pishchevaia khimiia* [Food Chemistry]. St. Petersburg, GIORД, 2003. 640 p. (in Russian).

10. Tsiupko T.G., Chuprinina D.A., Nikolaeva N.A., Voronova O.B., Temerdashev Z.A. [Evaluation of antioxidant activity of foodstuffs using of indicator system based on phenanthroline complexes of iron]. *Izvestiia vuzov. Pishchevaia tekhnologiia* [Proceedings of Higher Education. Food technology], 2011, no. 5-6, pp. 84-87 (in Russian).

11. Cammerer B., Kroh L.W. Antioxidant activity of coffee brews. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, vol. 223, no. 5, pp. 469-474. doi: 10.1007/s00217-005-0226-4.

12. Delgado-Andrade C., Morales F.J. Unraveling the contribution of melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.* 2005, vol.53, no 5, pp. 1403-1407. doi: 10.1021/jf048500p.

13. IUPAC. *Nomenclature of cyclitols.* *Biochem J.* 1976, no. 153, pp. 23-31.

14. Kremr D., Bajer T., Bajerova P., Surmova S., Ventura K. Unremitting problems with chlorogenic acid nomenclature: a review. *Quim. Nova.* 2016, vol. 39, no. 4, pp. 530-536. doi: 10.5935/0100-4042.20160063.

15. Farah A., Donangelo C. M. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.* 2006, vol. 18, no. 1, pp. 12-25. doi: 10.1590/S1677-04202006000100003.

16. Tishchenko E.A., Tsiupko T.G., Milevskaia V.V., Temerdashev A.Z. [Identification and chromatographic determination of bioactive components in the instant coffee samples]. *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2017, vol. 21, no. 3, pp. 251-261. doi: 10.15826/analitika.2017.21.3.008 (in Russian).

17. Lorand J.P., Edwards J.E. Polyol complexes and structure of the benzene boronate ion. *Int. J. Curr. Res. Chem. Pharma. Sci.* 1959, vol. 24, pp. 769-774.

18. Sychoy K., Styskin I. [Polyphenolic compounds analysis of coffee and tea under hydrophilic conditions of HPLC]. *Analitika* [Analytics], 2015, no. 5, pp. 56-61 (in Russian).

19. Shan Y., Jin X., Cheng Y., Yan W. Simultaneous determination of chlorogenic acids in green coffee bean extracts with effective relative response factors. *International Journal*

- of Food Properties, 2017, vol. 20, no. 9, pp. 2028-2040. doi: 10.1080/10942912.2016.1230746.
20. Muller C., Lang R., Hofmann T. Quantitative precursor studies on di- and trihydroxybenzene formation during coffee roasting using "in bean" model experiments and stable isotope dilution analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, vol. 54, no. 26, pp. 10086–10091. doi: 10.1021/jf062727y.
21. Wang H-Y., Qian H., Yao W-R. Review. Melanoidins produced by the Maillard reaction: structure and biological activity. *Food Chem.*, 2011, vol. 128, pp. 573–584. doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.075.
22. Bravo J., Monente C., Juaniz I., Paz De Pena M., Cid C. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 2013, vol. 50, pp. 610-616. doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.026.
23. Rodrigues N.P., Bragagnolo N. Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC–DAD–MSⁿ. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2013, vol. 32, pp. 105-115. doi: org/10.1016/j.jfca.2013.09.002.
24. Tsiupko T.G., Tishchenko E.A., Voronova O.B. [Spectrophotometric assessment of ferric reducing power of the instant coffee]. *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2016, vol. 20, no. 4, pp. 320-329. doi: 10.15826/analitika.2016.20.4.003 (in Russian).