

ОДНОВРЕМЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРОГЕНОВЫХ КИСЛОТ И КОФЕИНА В КОФЕ МЕТОДОМ ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

И.П. Блинова, Е.Ю. Олейниц, Я.Ю. Саласина, В.И. Дейнека, Ву Тхи Нгок Ань, Нгуен Ван Ань

Ирина Петровна Блинова (ORCID 0000-00002-4525-4536)*, Елена Юрьевна Олейниц (ORCID 0000-0003-2065-6296), Ярослава Юрьевна Саласина (ORCID 0000-0002-4118-9941), Виктор Иванович Дейнека (ORCID 0000-0002-3971-2246)

Кафедра общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, ул. Победы, 85, Белгород, Российская Федерация, 308015

E-mail: blinova@bsu.edu.ru*, oleinits_e@bsu.edu.ru, salasina@bsu.edu.ru, deineka@bsu.edu.ru

Ву Тхи Нгок Ань (ORCID 0000-0002-0510-1762)

Лаборатория анализа окружающей среды, Совместный Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр - Южное отделение, ул. 3/2, район 10, Хошимин, Вьетнам, 72500

E-mail: vuanh0000@gmail.com

Нгуен Ван Ань (ORCID 0000-0002-2924-7387)

Факультет Пищевых Технологий, Пищевой Промышленный Университет Хошимина, 140 Ле Тронг Тан, Тайтхань, Танфу, Хошимин, Вьетнам, 72000

E-mail: anhnv@hufi.edu.vn

Разработан вариант одновременного определения хлорогеновых (монокофеоилхинных и дикофеоилхинных) кислот и кофеина в кофе (напитке) с использованием обращенно-фазовой хроматографии со спектрофотометрическим детектированием. Для разделения предложен градиентный режим, составленный из двух компонентов подвижной фазы, содержащих по 3 об.% муравьиной кислоты и 6 и 20 об.% ацетонитрила в дистиллированной воде и хроматографическая колонка 150×4,6 мм Symmetry C18, 3,5 мкм; температура термостата колонки 30 °С. В работе обоснован выбор типа и концентрации подкислителя подвижной фазы. Установлено, что кислотность подвижных фаз должна быть не ниже рН 2 для перевода большей части хлорогеновых кислот в неионизированное состояние. Определены зависимости удерживания монокофеоилхинных кислот и кофеина от концентрации ацетонитрила и муравьиной кислоты, более эффективной по селективности разделения по сравнению с орто-фосфорной кислотой в подвижной фазе; при этом селективность разделения этих соединений сильнее зависит от концентрации муравьиной кислоты, чем от концентрации ацетонитрила. Определены концентрации хлорогеновых кислот и кофеина в напитках из двух сортов кофе, кофейной шелухи (высушенного перикарпа плодов кофе) (произведенных во Вьетнаме) и для сравнения еще двух вариантов – кофе вида арабика из обжаренных зерен и из зеленых декофеинизированных зерен других стран-производителей. Показано, что кофейная шелуха является ценным сырьем для приготовления альтернативного напитка. Так при использовании 1 г шелухи кофе при заварке 100 мл кипящей воды был получен напиток, содержащий около 10 мг (на 100 мл) монокофеоилхинных кислот, около 6 мг дикофеоилхинных кислот и около 3 мг кофеина.

Ключевые слова: кофе, одновременное определение, монокофеоилхинные кислоты, дикофеоилхинные кислоты, кофеин, кофейная шелуха

Для цитирования:

Блинова И.П., Олейниц Е.Ю., Саласина Я.Ю., Дейнека В.И., Ву Тхи Нгок Ань, Нгуен Ван Ань Одновременное определение хлорогеновых кислот и кофеина в кофе методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2023. Т. 66. Вып. 2. С. 45–52. DOI: 10.6060/ivkkt.20236602.6711.

For citation:

Blinova I.P., Oleinits E.Yu., Salasina Ya.Yu., Deineka V.I., Vu Thi Ngoc Anh, Nguyen Van Anh Simultaneous determination of chlorogenic acids and caffeine by reversed-phase HPLC. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2023. V. 66. N 2. P. 45–52. DOI: 10.6060/ivkkt.20236602.6711.

**SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CHLOROGENIC ACIDS AND CAFFEINE
BY REVERSED-PHASE HPLC**

I.P. Blinova, E.Yu. Oleinits, Ya.Yu. Salasina, V.I. Deineka, Vu Thi Ngoc Anh, Nguyen Van Anh

Irina P. Blinova (ORCID 0000-00002-4525-4536)*, Elena Yu. Oleinits (ORCID 0000-0003-2065-6296), Yaroslava Yu. Salasina (ORCID 0000-0002-4118-9941), Victor I. Deineka (ORCID 0000-0002-3971-2246)

Belgorod State National Research University, Pobedy st., 85, Belgorod, 308015, Russia
E-mail: blinova@bsu.edu.ru*, oleinits_e@bsu.edu.ru, salasina@bsu.edu.ru, deineka@bsu.edu.ru

Vu Thi Ngoc Anh (ORCID 0000-0002-0510-1762)

Environmental Analysis Laboratory, Southern Branch of Vietnam-Russia Tropical Center, 3/2 st., District 10, Ho Chi Minh City, 72500, Vietnam
E-mail: vuanh0000@gmail.com

Nguyen Van Anh (ORCID 0000-0002-2924-7387)

Faculty of Food Science and Technology, Ho Chi Minh City University of Food Industry, 140 Le Trong Tan st., Tan Phu, Ho Chi Minh City, 72000, Vietnam
E-mail: anhnv@hufi.edu.vn

A variant of simultaneous determination of chlorogenic (monocaffeoylquinic and dicaffeoylquinic) acids and caffeine in coffee (drink) using reversed-phase chromatography with spectrophotometric detection has been developed. For separation, a gradient mode is proposed exploring of two components of the mobile phase containing 3 vol.% of formic acid and 6 and 20 vol.% acetonitrile in distilled water and chromatographic column 150×4.6 mm Symmetry C18, 3.5 μm. Column thermostat temperature is 30 °C. The choice of the type and concentration of the acidifier of the mobile phase is justified in the work. It has been established that the acidity of the mobile phases should not be lower than pH 2 in order to transfer most of the chlorogenic acids to the non-ionized state. The dependences of the retention of monocaffeoylquinic acids and caffeine on the concentration of acetonitrile and formic acid, which is more effective in the selectivity of separation compared to orthophosphoric acid in the mobile phase, are determined. The selectivity of the separation of these compounds depends more on the concentration of formic acid than on the concentration of acetonitrile. Concentrations of chlorogenic acids and caffeine were determined in drinks from two varieties of coffee, coffee husk (dried pericarp of coffee fruits) (produced in Vietnam) and for comparison of two more variants – Arabica coffee from roasted grains and from green decaffeinated grains from other manufacturers. It is shown that coffee husk is a valuable raw material for the preparation of an alternative drink. Thus, when using 1 g of coffee husk when brewing 100 ml of boiling water, a drink containing about 10 mg (per 100 ml) of monocaffeoylquinic acids, about 6 mg of dicaffeoylquinic acids and about 3 mg of caffeine was obtained.

Key words: coffee, simultaneous determination, monocaffeoylquinic acids, dicaffeoylquinic acids, caffeine, coffee husk

ВВЕДЕНИЕ

Напитки, приготовленные из обжаренных семян кофе (*Coffea* L.), относятся к наиболее популярным во всем мире, причем реально употребляются семена двух видов кофе – арабика (*C. arabica* L.) и робуста (*C. canefora* P.). Ежегодный рынок производимого более чем в 18 странах кофе оценивается в 14 миллиардов долларов [1]. Качество

напитка, приготавливаемого из обжаренных семян, имеет важнейшее значение при оценке стоимости сырья. Аромат сваренного кофе (напитка) является важнейшим показателем качества кофе. Различают типы кофе по вкусу от очень мягкого, сладковатого с низкой кислотностью при постепенном усилении вяжущего вкуса до привкуса иодоформа, наконец – до так называемой Rio зона с неприятным вкусом и запахом [2]. К настоящему времени химические

аспекты аромата кофе до конца не определены вследствие сложности протекаемых при обжаривании кофе множества реакций разложения белков, полисахаридов, тригонеллина и хлорогеновых кислот. Поэтому у исследователей возникали идеи установления связи качества кофе с легко определяемыми низкомолекулярными компонентами растительного материала. Так, по данным [2] с высоким (органолептическим) качеством кофе коррелирует содержание тригонеллина и 3,4-дикофеоилхинной кислоты, и, в меньшей степени, – содержание кофеина. Тригонеллин (производное пиридина) косвенно связан с образованием при обжарке благоприятных компонентов аромата кофе. Кофеин придает горькую нотку вкусу кофе. Но наиболее важными прекурсорами запаха являются сахара – особенно сахароза. В работе [1] было установлено, что при изменении содержания кофеина от 14 мг на (здесь и далее на 1 г обжаренного кофе) до почти 21 мг качество падает от высокого до низкого. Аналогично качество снижалось при росте содержания хлорогеновых кислот от 8,56 мг до 16,21 мг, и повышалось только при росте содержания никотиновой кислоты с 7,13 мг до 10,16 мг.

Важнейшими биологически активными компонентами кофе, определяемыми спектрофотометрическими [3-5] и хроматографическими методами [6], являются кофеин и хлорогеновые кислоты, а реже – тригонеллин и никотиновая кислота [5]. При определении хлорогеновых кислот и кофеина методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в качестве органического модификатора подкисленных водно-органических подвижных фаз чаще всего используют метанол или ацетонитрил [7]. Несмотря на то, что хлорогеновые кислоты – монокофеоилхинные (МКХ) и дикофеоилхинные (ДКХ), и кофеин обладают различной липофильностью, добиться необходимого уровня разделения кофеина и 5-кофеоилхинной кислоты, 5CQA, и/или 4-кофеоилхинной кислоты, 4CQA, не так просто. Отметим, что при этом 3-кофеоилхинная кислота, 3CQA, удерживается существенно слабее этих соединений. Вероятно, поэтому обычно хлорогеновые кислоты и кофеин определяют по раздельности, а работы, в которых бы одновременно определяли монокофеоилхинные кислоты и кофеин, неожиданно не многочисленны [8-10]. Добавки кислот в подвижную фазу необходимы для получения стабильных времен удерживания (и площадей пиков) анализируемых соединений. При этом ни выбор самой кислоты, ни ее концентрации в известных нам работах никак не обосновываются.

И если с химической интерпретацией органолептических оценок качества кофе имеются значительные неопределенности, то значимость для человека основных ингредиентов напитка подтверждена экспериментально. Так, кофе относят к функциональным продуктам питания [8]. Употребление кофеина предотвращает такие заболевания, как диабет второго типа, болезнь Паркинсона и заболевания печени [11], а хлорогеновые кислоты кроме антиоксидантного действия снижают артериальное давление [12]. Поэтому определение этих компонентов является важной аналитической задачей, в том числе и для контроля процессов удаления кофеина из кофе – важного направления модификации напитка [13]. При этом единая методика одновременного определения указанных компонентов позволяет упростить определение и сократить время и расход органического модификатора подвижной фазы анализа исследуемых образцов кофе.

Цель настоящей работы – разработка метода одновременного определения хлорогеновых кислот и кофеина в водных настоях вьетнамского кофе и высушенной кофейной шелухи, являющейся в настоящее время отходом – пока не востребованным растительным сырьем во Вьетнаме.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе использовали образцы кофе: K1 – AROTI (робуста, Вьетнам), K2 – Hoang Phuong (арабика и робуста, Вьетнам), K3 – кофейная шелуха (Вьетнам), K4 - LAVAZZA (100% арабика, Италия), K5 – кофе зеленый (декофеинизированный, арабика, Гватемала).

Напитки готовили настаиванием растительного материала (порция около 1 г) в 50 мл кипятка в течение 20 мин и охлаждением до комнатной температуры.

Для определения компонентов настоев использовали хроматограф Agilent 1260 Infinity с диодно-матричным детектором. Для записи, хранения и обработки хроматограмм использовали программу Agilent Chem Station.

Для одновременного определения хлорогеновых кислот и кофеина использовали хроматографическую колонку 150×4,6 мм Symmetry C18, 3,5 мкм с защитной предколонкой 10×4 мм Kromasil 100-5C18, при расходе подвижной фазы 0,8 мл/мин. Для изучения зависимости удерживания определяемых компонентов от состава подвижной фазы разделение выполняли в изократических режимах в нескольких (по концентрации

компонентов подвижной фазы) составах. Для одновременного определения хлорогеновых кислот и кофеина использовали градиентный режим с двумя составами: элюента А – 3 об.% муравьиной кислоты – 6 об.% ацетонитрила в воде; элюента Б – 3 об.% муравьиной кислоты – 20 об.% ацетонитрила в воде. Программа градиентного режима: 0 мин – 0% Б; 20 мин – 100% Б; 30 мин – 100% Б, 31 мин – 0% Б; 40 мин – 0% Б, скорость подачи 0,8 мл/мин, температура термостата колонки – 30 °С. Хроматограммы записывали при двух длинах волн детектора – 325 нм (для регистрации и определения площадей пиков хлорогеновых кислот) и 273 нм (для регистрации и определения площадей пиков кофеина). Электронные спектры поглощения записывали в кювете диодно-матричного детектора в диапазоне длин волн 250-450 нм с шагом в 1 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ацетонитрил (а не метанол) был использован в данном исследовании для исключения реакции этерификации в подвижной фазе при использовании карбоновых кислот в качестве подкислителей подвижной фазы. Для выбора концентрации кислоты в подвижной фазе нами была исследована зависимость удерживания трех изомерных монокофеоиллиновых кислот (3СQA, 4СQA и 5СQA) в элюентах с постоянной концентрацией ацетонитрила (10 об.%) от рН 0,01 М фосфатного буфера. Для ионизируемых соединений суммарное удерживание можно рассчитать, учитывая удерживание диссоциированной (по карбоксильной группе, A^-) и недиссоциированной (НА) форм при известных долях этих форм в растворах как функции рН:

$$k(\Sigma) = k(НА) \cdot \alpha(НА) + k(A^-) \cdot \alpha(A^-).$$

Доли каждой из форм могут быть оценены (без учета коэффициентов активности) при заданном рН и заданном значении константы диссоциации кислоты, K_a :

$$\alpha(НА) = \frac{[НА]}{[НА] + [A^-]} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a}.$$

$$\alpha(A^-) = 1 - \alpha(НА) = \frac{K_a}{[H^+] + K_a}.$$

В таком случае для суммарного удерживания получаем уравнение:

$$k(\Sigma) = \frac{k(НА) \cdot [H^+] + k(A^-) \cdot K_a}{[H^+] + K_a}, \quad (1)$$

подбором двух неизвестных факторов удерживания и константы диссоциации можно согласовать полученные результаты с уравнением (1), (рис. 1). Из представленных данных следует, что наиболь-

шее удерживание для МКХ кислот (и наиболее стабильные результаты по удерживанию и по площадям пиков) может быть получено для элюентов с рН около 2, что соответствует низкой степени диссоциации и крайнему условию стабильности обычных химически модифицированных октадецилсилианизированных силикагелей (С18-стационарных фаз). Таким значениям рН соответствуют концентрации ортофосфорной кислоты ~ 0,25 об.%, и ~ 1 об.% муравьиной кислоты.

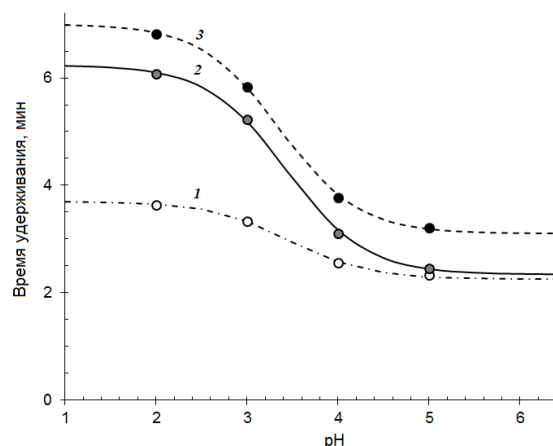


Рис. 1. Зависимость удерживания 3СQA, 5СQA и 4СQA от рН подвижной фазы. Колонка: 250×4,6 мм Kromasil 100-5С18; подвижная фаза: 10 об.% ацетонитрила в 0,01 М фосфатном буфере. Температура термостата колонки 30 °С. Вещества: 1 – 3СQA, 2 – 5СQA и 3 – 4СQA

Fig. 1. Dependence of the retention of 3СQA, 5СQA and 4СQA on the рН of the mobile phase. Column: 250×4.6 mm Kromasil 100-5 С18; mobile phase: 10 vol.% acetonitrile in 0.01 M phosphate buffer. The temperature of the column thermostat is 30 °С. Compounds: 1 – 3СQA, 2 – 5СQA and 3 – 4СQA

Для элюентов системы «ацетонитрил – 0,25 об.% H_3PO_4 – вода» на стационарной фазе Symmetry С18 три изомерные МКХ кислоты разделяются полностью ($s R_s > 1$) для всех использованных концентраций ацетонитрила (от 6 до 12 об.%), (рис. 2). Однако при этом возникают проблемы с отделением кофеина от 5СQA. Кофеин элюируется перед 5СQA, но это неудобно вследствие соэлюирования кофеина с некоторыми компонентами, всегда присутствующими в кофе и элюирующимися перед 5СQA.

Увеличение концентрации орто-фосфорной кислоты практически не влияет на времена удерживания хлорогеновых кислот и мало влияет – на удерживание кофеина, как очень слабого основания [14]. Следовательно, элюентные системы на основе водных растворов ацетонитрила и орто-фосфорной кислоты не эффективны для решения поставленной задачи.

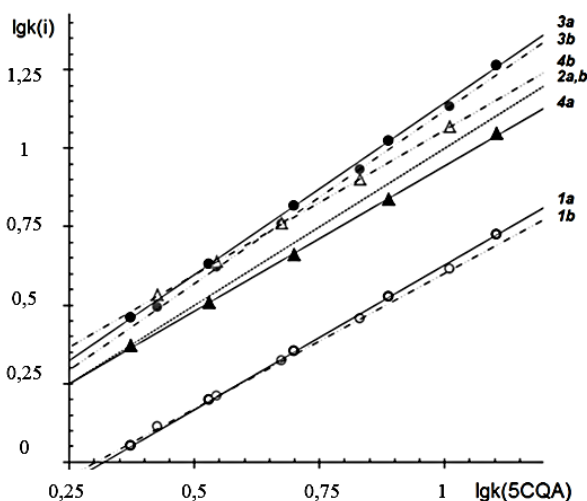


Рис. 2. Зависимость удерживания кофеина и 3CQA, 5CQA и 4CQA от удерживания 5CQA в подвижных фазах: «(6-12) об.% ацетонитрила–0,25 об.% H_3PO_4 –вода» при 30 °С, - а; и «(6-12) ацетонитрила–1 об.% HCOOH –вода» при 22 °С - б. Хроматографическая колонка: 150×4,6 мм Symmetry C18, 3,5 мкм. Вещества: 1 – 3CQA; 2 – 5CQA; 3 – 4CQA; 4 – кофеин

Fig. 2. Dependence of the retention of caffeine and 3CQA, 5CQA and 4CQA on the retention of 5CQA in mobile phases: "(6-12) vol.% acetonitrile–0.25 vol.% H_3PO_4 –water" at 30 °C, - a; and "(6-12) acetonitrile–1 vol.% HCOOH –water" at 22 °C - b. Chromatographic column: 150×4.6 mm Symmetry C18, 3.5 μm . Substances: 1 – 3CQA; 2 – 5CQA; 3 – 4CQA; 4 – caffeine

Альтернативой ортофосфорной кислоте может быть карбоновая кислота, которая должна быть достаточно сильной, чтобы создавать pH около 2. К таковым относятся муравьиная кислота (или трифторуксусная). Как следует из приведенных на рис. 2 данных, замена орто-фосфорной кислоты на муравьиную особенно сильно влияет на положение элюирования кофеина. Вследствие больших наклонов линий трендов для 5CQA и 4CQA по сравнению с кофеином с ростом концентрации муравьиной кислоты в подвижной фазе удерживание последнего становится большим, чем хлорогеновых кислот, (рис. 3).

Таким образом, в качестве подвижных фаз для разделения монокофеоилхиновых кислот и кофеина удобно использование подвижных фаз, содержащих ацетонитрил и, например, 3 об.% муравьиной кислоты в воде. Уксусную кислоту, как слабую, использовать не целесообразно по указанной выше причине, а вот трифторуксусная (как сильная) кислота могла бы стать альтернативой муравьиной кислоте. Более того, учитывая, что трифторацетат-ион может действовать как ион-парный реагент [15], была надежда на то, что при использовании этой кислоты вместо добавок алкансульфонатов [5] можно было бы сдвинуть пик тригонеллина с мертвого времени на удобное для определения

расстояние. Однако для создания pH 2 требуется очень мало трифторуксусной кислоты (менее 0,08 об.%), поэтому время элюирования тригонеллина по-прежнему совпадает с мертвым временем колонки, более того, и удерживание кофеина совпадает с удерживанием 4CQA. Т.е. остается только муравьиная кислота в качестве удобного подкислителя подвижной фазы.

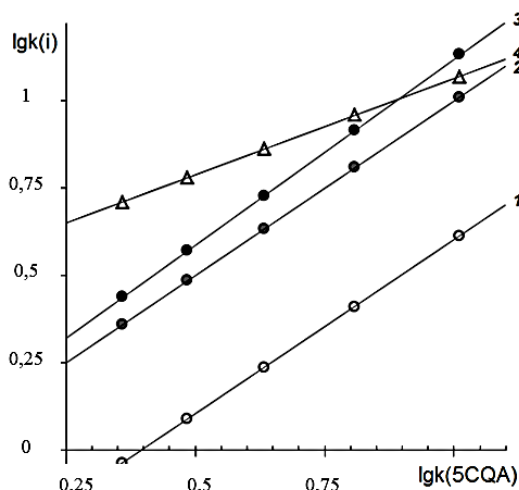


Рис. 3. Зависимость удерживания кофеина и трех изомерных монокофеоилхиновых кислот от удерживания 5-кофеоилхиновой кислоты в подвижных фазах: «6 об.% ацетонитрила–(1-10) об.% HCOOH –вода» при 22 °С. Хроматографическая колонка: 150×4,6 мм Symmetry C18, 3,5 мкм. Вещества: 1 – 3CQA; 2 – 5CQA; 3 – 4CQA; 4 – кофеин

Fig. 3. Dependence of the retention of caffeine and three isomeric monocaffeoylquinic acids on the retention of 5-coffeoylquinic acid in mobile phases: "6 vol.% acetonitrile–(1-10) vol.% HCOOH –water" at 22 °C. Chromatographic column: 150×4.6 mm Symmetry C18, 3.5 μm . Substances: 1 – 3CQA; 2 – 5CQA; 3 – 4CQA; 4 – caffeine

При одновременном определении хлорогеновых кислот и кофеина следует использовать градиентный режим, указанный в экспериментальной части, вследствие существенного роста липофильности при переходе от МКХ к ДКХ кислотам, (рис. 4). На хроматограммах были обнаружены пики тригонеллина (пик 1, идентифицированный по характеристичному электронному спектру поглощения [5]); 3CQA, 5CQA и 4CQA (пики 2, 3 и 4, идентифицированные по характеристичным электронным спектрам поглощения, по закономерностям удерживания [16] и по удерживанию стандартного образца 5CQA).

Отметим, что перед пиком 5CQA видна группа пиков со спектрами, не соответствующими производным *p*-кумаровой кислоты, а относящихся к изомерам кофеоилхиновых кислот. Кофеин (пик 6) был установлен по характеристическому

электронному спектру поглощения и по удерживанию стандартного вещества. Пик 5 отнесен к 3-ферулоилхинной кислоте (по электронному спектру поглощения, смещенному гипсохромно на 2 нм относительно спектров кофеилхинных кислот и на основании литературных данных [17]).

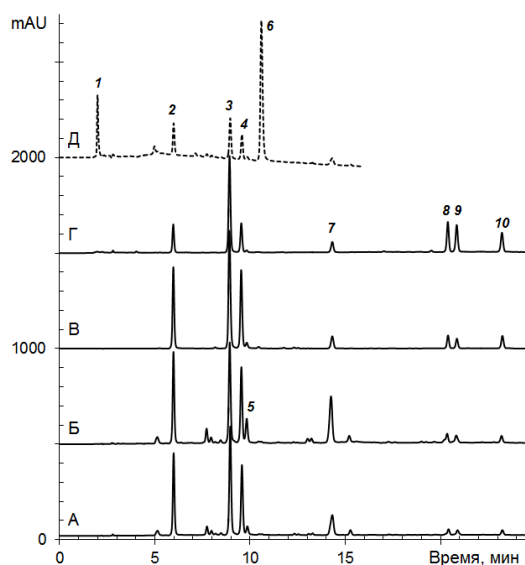


Рис. 4. Разделение компонентов некоторых исследованных напитков. Хроматограммы записанные при 325 нм: А – К1; Б – К2, В – К3; Г – К5; но хроматограмма Д (К5), записана при 273 нм. Вещества; 1 – тригонеллин; 2 – 3CQA; 3 – 5CQA; 4 – 4CQA; 5 – 3FQA (3-ферулоилхинная кислота); 6 – кофеин; 7 – 5FQA (5-ферулоилхинная кислота) + 4FQA (4-ферулоилхинная кислота); 8 – 3,4diCQA (3,4-дикофеоилхинная кислота); 9 – 3,5diCQA (3,5-дикофеоилхинная кислота); 10 – 4,5diCQA (4,5-дикофеоилхинная кислота)

Fig. 4. Separation of the components of some of the studied beverages. Chromatograms recorded at 325 nm: А – К1; В – К2, В – К3; g-K5; but chromatograms D (K5) recorded at 273 nm. Substances; 1 – trigonellin; 2 – 3CQA; 3 – 5CQA; 4 – 4CQA; 5 – 3FQA (3-feruloylquinic acid); 6 – caffeine; 7 – 5FQA (5-feruloylquinic acid) + 4FQA (4-feruloylquinic acid); 8 – 3,4diCQA (3,4-dicaffeoylquinic acid); 9 – 3,5diCQA (3,5-dicaffeoylquinic acid); 10 – 4,5diCQA (4,5-dicaffeoylquinic acid)

Пик 7 является сложным пиком для различных образцов, образованных 5-ферулоилхинной и 4-ферулоилхинной кислотами, частично разделяющихся при изократическом элюировании в элюентах, содержащих менее 8,8 об.% ацетонитрила и 3 об.%

муравьиной кислоты. При этом в аналогичной же области времен удерживания (для других режимов элюирования) для ряда образцов появляются пики с электронными спектрами поглощения кофеилхинных кислот, которые по литературным данным могут соответствовать лактонам [18]. Пики 8, 9 и 10 соответствуют 3,4diCQA, 3,5diCQA и 4,5diCQA [19], но в образцах, приготовленных из обжаренных кофейных зерен, на эти пики накладываются пики неизвестных изомеров.

Результаты количественного определения компонентов напитков представлены в таблице.

Из представленных данных следует, что концентрация монокофеоилхинных кислот в напитке, приготовленном из зеленого декофеинизированного кофе, существенно больше, чем в напитках, приготовленных из обжаренных зерен кофе. Это подтверждается известным фактом о том, что при обжарке может потеряться более 50% исходных хлорогеновых кислот [20], причем часть монокофеоилхинных кислот (3CQA и 4CQA) превращаются в лактоны [18, 20]. Концентрация кофеина оказалась более высокой в напитке, приготовленном из кофе робуста (К1), чем из кофе арабика (К4), что также соответствует литературным данным [21]. При этом зеленый кофе (К5) действительно оказался декофеинизированным.

Особое внимание следует обратить на напиток, приготовленный из шелухи плодов кофе (К3), которую рассматривают в качестве отхода кофейной промышленности. Но в этом растительном материале, по полученным в настоящей работе и по литературным данным (как и в других частях растения) [22, 23], содержится значительное количество биологически активных компонентов. Кстати, красная окраска плодов кофе обеспечивается биосинтезом важнейших водорастворимых антиоксидантов и красителей антоцианов [23]. В настоящее время известно использование высушенного перикарпа плодов кофе (шелухи) для приготовления вкусного напитка, получившего, как и сам растительный материал, название «cascara cherry tea» [24, 25].

Таблица

Результаты одновременного определения хлорогеновых кислот и кофеина в кофе (напитках), мг/100 мл (p = 0,95, n = 3)

Table. Results of simultaneous determination of chlorogenic acids and caffeine in coffee (beverages), mg/100 ml (p = 0,95, n = 3)

Образцы кофе	К1	К2	К3	К4	К5
Монокофеоилхинные кислоты	21,6±0,2	4,5±0,1	10,3±0,2	26,2±0,1	80,6±0,4
Дикофеоилхинные кислоты	2,7±0,3	0,4±0,1	5,9±0,2	2,0±0,1	12,0±0,2
Сумма хлорогеновых кислот	24,3	4,9	16,2	28,2	92,6
Кофеин	18,0±0,1	7,4±0,1	3,1±0,1	9,4±0,1	0,10±0,03

ВЫВОДЫ

Предложен обоснованный по анализу зависимости удерживания веществ от концентрации компонентов подвижной фазы вариант одновременного определения монокофеоилхинных, дикофеоилхинных кислот и кофеина в кофе (напитках). Для разделения используется градиентный режим с ацетонитрилом и муравьиной кислотой в качестве компонентов подвижной фазы. Предложен вариант хроматографического метода оценки значимости напитка для здоровья человека – как дополнение к известным органолептическим способам оценки качества кофе. Показано, что отходы кофе (высушенный перикарп или шелуха) являются ценными растительными объектами для приготовления альтернативного варианта напитка.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

- Girma B.** Simultaneous Determination of Some Biochemical Contents of Coffee Arabica (*Coffea arabica* L.) Varieties and Correlation with Organoleptic Cup Quality in Contrasting Altitudes in Southwest Ethiopia. *Food Sci. Quality Manag.* 2020. V. 93. P. 22-34. DOI: 10.7176/FSQM/93-03.
- Farah A., Monteiro M.C., Calado V., Franca A.S., Trugo L.C.** Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chem.* 2006. V. 98. P. 373–380. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.07.032.
- Belay A., Gholap A.V.** Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. *African J. Pure Appl. Chem.* 2009. V. 3. P. 234-240. DOI: 10.5897/AJPAC.
- Navarra G., Moschetti M., Guarrasi V., Mangione M.R., Militello V., Leone M.** Simultaneous Determination of Caffeine and Chlorogenic Acids in Green Coffee by UV/Vis Spectroscopy. *J. Chem.* 2017. V. 2017. Art. ID 6435086. DOI: 10.1155/2017/6435086.
- Atlabachew M., Abebe A., Wubieneh T.A., Habtemariam Y.T.** Rapid and simultaneous determination of trigonelline, caffeine, and chlorogenic acid in green coffee bean extract. *Food Sci. Nutr.* 2021. V. 9. P. 5028–5035. DOI: 10.1002/fsn3.2456.
- Murata M., Okada H., Homma S.** Hydroxycinnamic Acid Derivatives and p-Coumaroyl-(L)-tryptophan, A Novel Hydroxycinnamic Acid Derivative, from Coffee Beans. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1995. V. 59. P. 1887-1890. DOI: 10.1271/bbb.59.1887.
- Jeszka-Skowron M., Sentkowska A., Pyrzyńska K., De Peca M.P.** Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *Eur. Food Res. Technol.* 2016. V. 242. P. 1403–1409. DOI: 10.1007/s00217-016-2643-y.
- Jeon J.-S., Kim H.-T., Jeong I.-H., Hong S.-R., Oh M.-S., Park K.-H., Shim J.-H., Abd El-Aty A.M.** Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. *J. Chromat. B.* 2017. V. 1064. P. 115–123. DOI: 10.1016/j.jchromb.2017.08.041.
- Rodrigues N.P., Bragagnolo N.** Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC–DAD–MSn. *J. Food Comp. Anal.* 2013. V. 32. P. 105–115. DOI: 10.1016/j.jfca.2013.09.002.
- Vinson J.A., Chen X., Garver D.D.** Determination of Total Chlorogenic Acids in Commercial Green Coffee Extracts. *Med. Food.* 2019. V. 22. P. 314–320. DOI: 10.1089/jmf.2018.0039.
- Higdon J.V., Frei B.** Coffee and health: a review of recent human research. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2006. V. 46. P. 101–123. DOI: 10.1080/10408390500400009.
- Watanabe T., Arai Y., Mitsui Y., Kusaura T., Okawa W., Kajihara Y., Saito I.** The blood pressure-lowering effect and safety of chlorogenic acid from green coffee bean extract in essential hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 2006. V. 28. P. 439–449. DOI: 10.1080/10641960600798655.
- Меньшутина Н.В., Казеев И.В., Артемьев А.И., Бочарова О.А., Худеев И.И.** Применение сверхкритической экстракции для выделения химических соединений. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2021. Т. 64. Вып. 6. С. 4-19. DOI: 10.6060/ivkkt.20216406.6405.
- Menshutina N.V., Kazeev I.V., Artemiev A.I., Bocharova O.A., Khudeev I.I.** Application of supercritical extraction for isolation of chemical compounds. *Chem-ChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2021. V. 64. N 6. P. 4-19 (in Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20216406.6405.
- Spiro M., Grandoso D.M., Price W.E.** Protonation constant of caffeine in aqueous solution. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1.* 1989. V. 85. P. 4259-4267. DOI: 10.1039/F19898504259.
- Dai J., Mendonsa S.D., Bowser M.T., Lucy C.A., Carr P.W.** Effect of anionic additive type on ion pair formation constants of basic pharmaceuticals. *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1069. P. 225–234. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.02.030.
- Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Блинова И.П., Дейнека Л.А.** Селективность разделения изомерных хлорогеновых кислот в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ. *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 8. С. 588–594. DOI: 10.1134/S004445021908005X.
- Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Blinova I.P., Deineka L.A.** Selectivity of the Separation of Isomeric Chlorogenic Acids under the Conditions of Reversed-Phase HPLC. *J. Analyt. Chem.* 2019. V. 74. P. 778–783. DOI: 10.1134/S1061934819080057.
- Clifford M.N., Wight J.** The Measurement of Feruloylquinic Acids and Caffeoylquinic Acids in Coffee Beans. Development of the Technique and its Preliminary Application to Green Coffee Beans. *J. Sci. Food Agric.* 1976. V. 27. P. 13-84. DOI: 10.1002/jsfa.2740270112.
- Schrader K., Kiehne A., Engelhardt U.H., Maier H.G.** Determination of Chlorogenic Acids with Lactones in Roasted Coffee. *J. Sci. Food Agric.* 1996. 71. P. 392-398. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(199607)71:3<392::AID-JSFA597>3.0.CO;2-X.

19. **Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Чулков А.Н., Дейнека Л.А.** Управление селективностью разделения дикофеоилхинных кислот в обращенно-фазовой хроматографии. *Журн. аналит. химии*. 2022. Т. 77. С. 569–575. DOI: 10.31857/S0044450222060068.
- Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Chulkov A.N., Deineka L.A.** Control of the selectivity of the separation of dicofeo-ilchinic acids in reverse-phase chromatography. *Journal. Analyte. Chemistry*. 2022. V. 77. P. 569-575. DOI: 10.31857/S0044450222060068.
20. **Farah A., de Paulis T., Trugo L.C., Martin P.R.** Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. *J. Agric. Food Chem.* 2005. 53. P. 1505-1513. DOI: 10.1021/jf048701t.
21. **Кү С.-Л., Louarn J., Dussert S., Guyot B., Hamon S., Noirot M.** Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. Accessions. *Food Chem.* 2001. V. 75. P. 223–230. doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00204-7
22. **Klingel T., Kremer J.I., Gottstein V., de Rezende T.R., Schwarz S., Lachenmeier D.W.** A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods within the European Union. *Foods*. 2020. V. 9. P. 665. DOI: 10.3390/foods9050665.
23. **Cangussu L.B., Melo J.C., Franca A.S., Oliveira L.S.** Chemical Characterization of Coffee Husks, a By-Product of *Coffea arabica* Production. *Foods*. 2021. 10. P. 3125. DOI: 10.3390/foods10123125.
24. **Lachenmeier D.W., Schwarz S., Rieke-Zapp J., Cantergiani E., Rawel H., Martin-Cabrejas M.A., Martuscelli M., Gottstein V., Angeloni S.** Coffee By-Products as Sustainable Novel Foods: Report of the 2nd International Electronic Conference on Foods—“Future Foods and Food Technologies for a Sustainable World”. *Foods*. 2022. V. 11. P. 3. DOI: 10.3390/foods11010003.
25. **Sholichah E., Desnilasari D., Subekti R.J., Karim M.A., Purwono B.** The influence of coffee cherry fermentation on the properties of Cascara arabica from Subang, West Java. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2011. V. 1011. P. 012006. DOI: 10.1088/1757-899X/1011/1/012006.

Поступила в редакцию 22.08.2022

Принята к опубликованию 17.10.2022

Received 22.08.2022

Accepted 17.10.2022