



ФОНД
НАУЧНИ
ИЗСЛЕДВАНИЯ

МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА

Списание за наука

„Ново знание“

ISSN 2367-4598 (Online)

Академично издателство „Талант“

Висше училище по агробизнес и развитие на
регионите - Пловдив

New Knowledge

Journal of Science

ISSN 2367-4598 (Online)

Academic Publishing House „Talent“

University of Agribusiness and Rural Development -
Bulgaria

<http://science.uard.bg>

TRACKING THE PROCESSES OF MELANODIN FORMATION IN COFFEE

Snezhana Ivanova

University of food technologies – Plovdiv, Bulgaria

Abstract: Melanoidins are high molecular brown colored substances and products of sugar-amine reaction of Maillard. They are formed during roasting a green coffee beans under different thermal regimes of heat treatment. In the technological production of different types coffee beverages, the coffee powder is subjected to after-heat treatment. In these additional operations again become active processes of melanoidin formation and their changing their structures. This is changes of the Melanoidins have different effects on human health. It is therefore important to know their chemical structures and changes. Previous studies have shown that polysaccharides, proteins and chlorogenic acids are included in the formation of these melanoidins. However, the precise structures of coffee melanoidins and mechanisms involved in the formation are not yet clarified. This article systematize available information and provides an overview of research obtained so far on the structure of coffee melanoidins and mechanisms of their formation and potential health effects.

Keywords: Maillard reaction, melanoidin fraction, autoxidation, antioxidants, phenolic compounds, high molecular brown colored compounds

ПРОСЛЕДЯВАНЕ ПРОЦЕСИТЕ НА МЕЛАНОИДИНООБРАЗУВАНЕ В КАФЕ

Снежана Иванова

Университет по хранителни технологии - Пловдив, България

Резюме: Меланоидините са високомолекулярни кафяви вещества и продукти от реакцията на захар-амин на Maillard. Те се образуват по време на печене на зелено кафе на зърна при различни термични режими на топлинна обработка. При технологичното производство на различни видове кафе напитки кафеният прах се подлага на последваща обработка. При тези допълнителни операции отново се активират процесите на образуване на меланоидини и промяната на техните структури. Тези промени на меланоидините имат различни ефекти върху човешкото здраве. Затова е важно да се знаят техните химични структури и промени. Предишни проучвания показват, че във формирането на тези меланоидини са включени полизахариди, протеини и хлорогенни киселини. Въпреки това, точните структури на меланоидините от кафе и механизмите, участващи в образуването, все още не са изяснени. Тази статия систематизира наличната информация и дава общ преглед на досегашните научните изследвания за структурата на меланоидините от кафе, механизмите за тяхното образуване и потенциалните ефекти върху здравето.

Ключови думи: реакция на Maillard, меланоинова фракция, автоокисление, антиоксиданти, фенолни съединения, високомолекулни кафявооцветени съединения

ВЪВЕДЕНИЕ

Кафето е популярен продукт, който като напитка се използва за масова и ежедневна консумация сред населението в света. За това важен и актуален проблем е какви процеси протичат по време на обработката на кафените зърна и на самите напитки от тях. В проучването си установихме, че много изследователи работят в тази насока, но с много противоречиви резултати и мнения. В обзорната статия ще проследим едни от най-важните процеси, които протичат при обработката на кафеения продукт, а именно меланоидинообразуването.

По време на процесите на печене на кафеените зърна се образуват нелетливи, високомолекулни полимери с полидисперсна структура в резултат на реакцията на Maillard (Gniechwitz, D. Reichardt, N. Ralph, J., Blaut, M., Steinhart, H., 2008; Hofmann, T., Czerny, M.; Calligaris, S., 2001; Ledl, F., Schleicher, E., 1990). Те са азотсъдържащи продукти и са посочени като меланоидини, които съставляват до 25% от сухата маса на запарване (Gniechwitz, D *et al.*, 2008, Nunes, F.M. and Coimbra, M.A., 2007, Bekedam, E.K., Schols, H.A., Van Boekel, M.A.J.S. and Smit, G., 2006). Химичната структура на меланоидините е все още неизвестна. Под влиянието на топлинната обработка се образуват полимери с различна големина в резултат на участието на протеините, полизахаридите и хлорогенните киселини, които са доказани от изследователски екипи (Cämmerer, B.; Jalyschkov, V. and Kroh, L.W., 2002; Bekedam, E.K. *et al.*, 2007, Manzocco, L. *et al.*, 2001., Nunes, F.M. *et al.*, 2002, Bekedam, E.K. *et al.*, 2008).

Някои епидемиологични изследвания показват, че консумацията на кафе може да има положителен ефект върху няколко вида хронични заболявания като захарен диабет тип 2, заболяване на черния дроб и болест на Паркинсон (Higdon, J.V. and Frei, B., 2006). Едни от последните научни изследвания показват обратна връзка между

консумацията на кафе и риска от рак на дебелото черво (Yu, X.F., Bao, Z.J., Zou, J.A. and Dong, J., 2011). Предполагаемият защитен ефект на кафето се получава в зависимост от дозата, защото екипи от учени установяват, че рискът намалява с 6% с всяка чаша кафе (60 ml) стандартна доза на ден, достигайки 30% намален риск за хора, които пият до 5 чаши на ден (300 ml) (Galeone, C., Turati, F., La Vecchia, C., and Tavani, A., 2010). Очевидно други компоненти освен кофеина са отговорни, за да се обясни това явление. Като значително намаляване на риска от рак на ректума се съобщава също и за изследвания на безкофеиново кафе (Michels, K.B., Willett, W.C., Fuchs, C.S. and Giovannucci, E., 2005). Въпреки това в момента няма окончателно становище за възможно подобряване на здравето и предотвратяване на рака в резултат на редовна консумация на кафени напитки, които дават метаанализите и проспективните кохортни проучвания. Те показват само незначителното въздействие на консумацията на кафе върху честотата на заболяванията от рак на дебелото черво (Je, Y.J.; Liu, W. and Giovannucci, E., 2009; Arab, L., 2010). По научни изследвания в това отношение влияние оказват меланоидините, изолирани от кафе по специални методики (Giovannucci, E., 2009; Arab, L., 2010).

В някои изследвания се наблюдава, че меланоидините, изолирани от кафе, могат да инхибират ангиотензин-I-конвертиращия ензим (ACE), цинк – металопротеаза, участващ в регулирането на кръвното налягане (Rufian-Henares, J.A.; Morales, F.J. 2007). Матрицата металопротеази (MMPs) са друг клас цинк-съдържащи ендопептидази, които могат да се разграждат и преобразуват извънклетъчни матрични компоненти и базална мембрана, като са включени в няколко физиологични процеса, включително ембрионалното развитие, растеж, зарастване на рани и други функции, изискващи реорганизация на тъканите (Brinckerhoff, C.E. 2002).

ПРОЦЕСИ НА МЕЛАНОИДИНООБРАЗУВАНЕ В КАФЕ

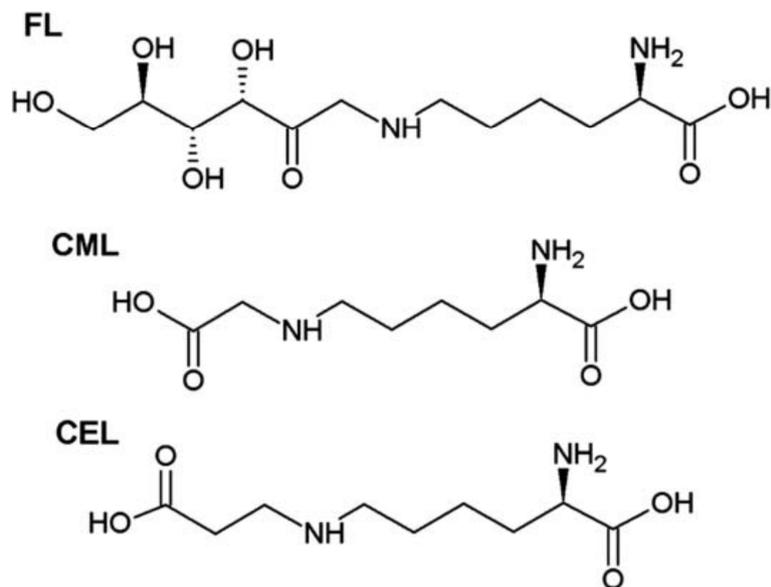
Меланоидинообразуването е сложен процес и неговото изследване е ограничено. Химичната структура на меланоидините е все още неизвестна и недоказана. Доказването на химичната структура на меланоидините от кафе е затруднена поради сложността и многообразието на техния състав и най - вече в трудността при изолирането им в чист вид.

Използвани са различни методи и подходи за изолиране на меланоидини от кафе, като са използвани методите на диализа.

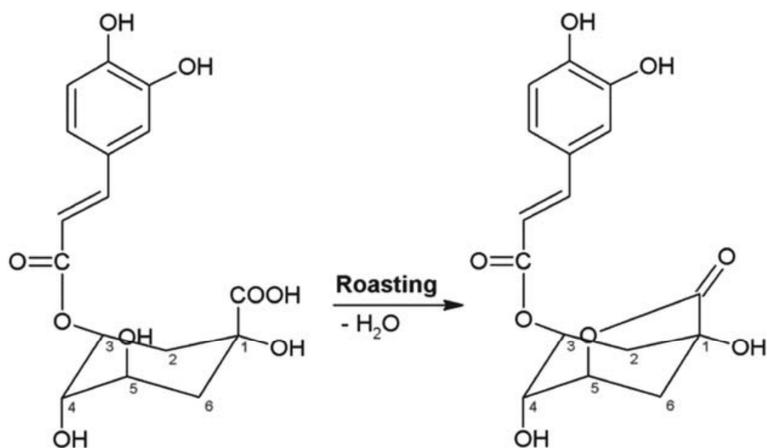
Меланоидините са краен продукт на Маяровата реакция (Martins S. I. F. S., W. M. F. Jongen and M. A. J. S. van Boekel, 2000; Rizzi, G. P., Food Rev. Int., 1997). Този неензимен процес на покафеняване включва поредица от различни реакции между редуциращи захари и компоненти със свободни аминогрупи, като се преминава през три различни етапа – първи, среден и краен продукт. Меланоидините основно се определят като азотсъдържащи високомолекулни, кафяво оцветени съединения (Nunes, F. and M. A. Coimbra, 2010; Wang, H.-Y. H. Qian and W.-R. Yao, 2011).

Реакционни продукти на Maillard, получени от лизин, включително N3-(фруктозил) лизин (FL, са разпознати като furosine след киселинна хидролиза, N3-(карбоксиметил) лизин (CML), и N3-(карбоксийтил) лизин (CEL) (Фиг. 1), са идентифицирани в HMWM и като меланоидинови фракции (Nunes, F. M. and M. A. Coimbra, 2007). Идентифицирането на тези съединения, макар и в много малки количества, предполага, че аминокиселините, модифицирани по време на печене на кафето, също са включени в меланоидиновите структури. Различни меланоидинови фракции, съдържащи хлорогенова киселина CGAS (или техни производни) са били изолирани от HMWM на екстракти от печено кафе Nunes, F. M. and M. A. Coimbra, 2007; Bekedam E. K., M. J. Loots, H. A. Schols, M. A. J. S. Van Boekel and G. Smit, J.,

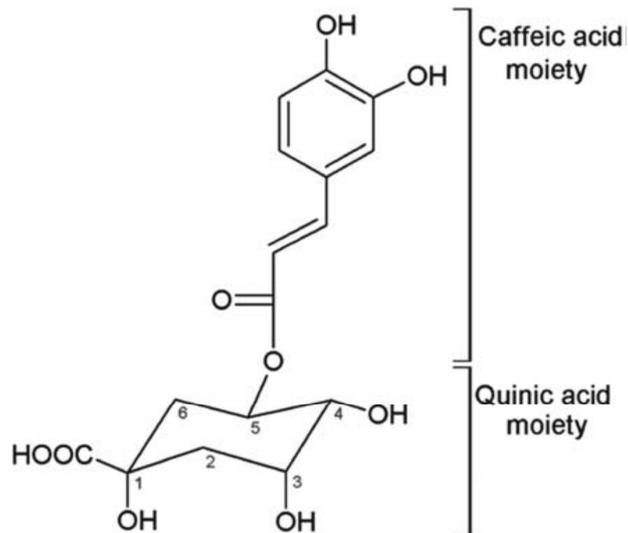
2008). Наличието на хлорогенова киселина CGAS в HMWM и меланоидинови фракции са установени въз основа на количествено определяне на фенолни съединения, чрез използването на Folin–Ciocalteu реагенти (Bekedam E. K., H. A. Schols, M. A. J. S. van Boekel and G. Smit, 2006; Bekedam E. K., M. P. F. C. De Laat, H. A. Schols, M. A. J. S. Van Boekel and G. Smit, 2007). Все пак това не е колориметричен анализ, специфичен за фенолни съединения, но е анализ за редуциране на компонентите.



Фиг. 1. Реакционни идентифицирани продукти на Maillard – меланоидинови структури в кафе: N3- (фруктозил) лизин N3- (карбоксиметил) лизин (CML), и N3- (карбоксиметил) лизин (CEL)



Фиг. 2. Формиране на 1,5 хиниолактон от 3-О - кафеоилхинова киселина (3-CQA) по време на печене на кафе Formation of a 1,5-g-quinolactone from caffeoylquinic acid, както е предложено от (Farah et al., 2006)

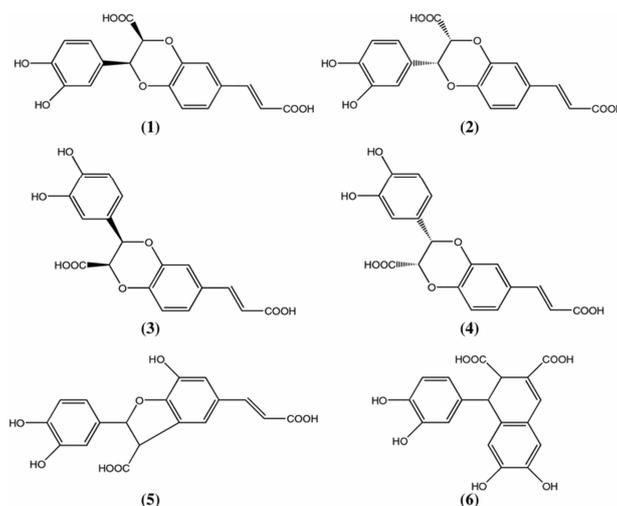


Фиг. 3. Структура на 5-О- кафеоилхинова киселина (5-CQA)

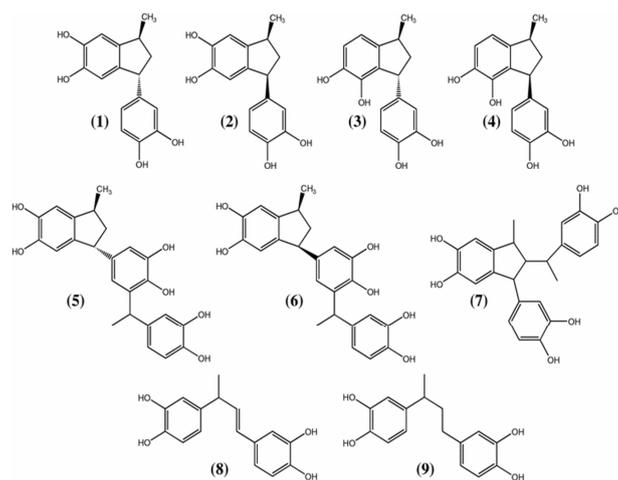
АНТИОКСИДАНТНА ДЕЙНОСТ

Nunes, F. M and Coimbra, A. Manuel (2010) изследват ролята на фенолните съединения в меланоидинообразуването при печене на кафе. Като с експерименти изясняват че взаимодействието между фенолните съединения и меланоидините може да бъде ковалентно и нековалентно. Чрез техните изследвания те доказват, че основните точки на свързване се извършва чрез протеинови фрагменти, включени в структурата на меланоидините образувани се по време на печене на кафе в присъствието на въглехидрати като арабинозата, което показва възможните места за свързване на хлорогеновите киселини и се включват по този начин в меланоидиновата структура. Те също изследват антиоксидантната активност на меланоидините образувани при печенето на кафе (Nunes, F. M and Coimbra, A. Manuel 2010).

Експериментите за автоокисление на кафеената киселина са извършени в анион фенолатни разтвори, като са идентифицирани съединения, показани на (Фиг. 4) и (Фиг. 5).



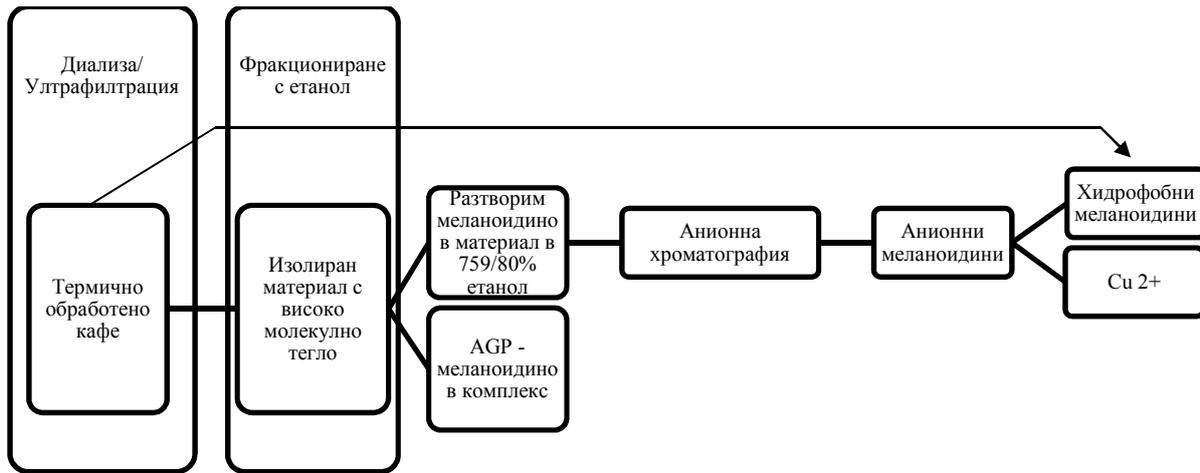
Фиг. 4. Антиоксидантни продукти на кафеената киселина(1); кофеин А (2); кофеин В (3); кофеин С (4), кофеин D (5); кофеин E (6). (Cilliers and Singleton 1989, 1991)



Фиг. 5. Кондензационни продукти от термичната обработка на кафеена киселина
 1 *trans*-5,6-Dihydroxy-1-methyl-3-(3',4'- dihydroxyphenyl) indane; 2 *cis*-5,6-Dihydroxy-1-methyl-3-(3',4'-dihydroxyphenyl) indane; 3 *trans*-4,5-Dihydroxy-1-methyl-3-(3',4'-dihydroxyphenyl) indane; 4 *cis*-4,5-Dihydroxy-1-methyl-3-(3',4'-dihydroxyphenyl) indane; 5 *trans*-5,6-Dihydroxy-1-methyl-3-[3',4'-dihydroxy-5'-(1-(3'',4''-dihydroxyphenyl)-1-ethyl)phenyl] indane; 6 *cis*-5,6-Dihydroxy-1-methyl-3-[3',4'-dihydroxy-5'-(1-(3'',4''-dihydroxyphenyl)-1-ethyl)phenyl] indane; 7 5,6-Dihydroxy-1-methyl-2-[1-(3',4'-dihydroxyphenyl)-1-ethyl]-3-(3'',4''-dihydroxyphenyl) indane; 8 *trans*-1,3-Bis(3',4'-dihydroxyphenyl)-1-butene; 9 1,3-Bis(3',4'-dihydroxyphenyl) butane (Rizzi and Boekley 1992; Stadler et al. 1996; Frank et al. 2007)

Изследванията показват, че меланоидините имат структурно разнообразие и съдържат термично трансформирани полизахариди, протеини и фенолни съединения. Различни меланоидинови фракции са били получени чрез прилагане на техники за хроматографско разделяне или в специфични процедури за изолиране. Въпреки че използваните методи за изолиране на меланоидини са аналитични методи, използвани за тяхното пречистване не са идентични, но научната основа за прилагането им е една и съща показана на (Фиг. 6). Меланоидините са изолирани, като се използва тяхното високо молекулно тегло, и пречистването на различните меланоидинови популации се извършва с помощта на различни физикохимични свойства като разтворимост, заряд, метална способност, и хидрофобност. Меланоидините, образувани в термично обработено кафе, са с високо молекулно тегло (HMWM) и са изолирани чрез диализа, използвайки мембрани с определено молекулно тегло (Gniechwitz and col., 2008a). (Нунес и Коимбра, 2007), изолират меланоидините чрез диализа и след това филтруване с помощта на влакно с определено молекулно тегло (Bekedam и др. 2006), чрез диализа и филтрация, последвано от диализа (Bekedam и др. 2006), и чрез поетапно допирателна поточна ултрафилтрация, използвайки конкретно молекулно тегло (Gniechwitz и др., 2008b).

Диафилтрацията и диализата са процедури, които не позволяват възстановяването на същото количество изолиран материал (Bekedam and col. 2006). В действителност, по-голямо количество материал се извлича чрез диализа от диафилтруване, въпреки по-високо молекулно тегло от диализни мембрани. Тези различия са били приписани на различен химичен състав на мембраните и принципите на разделяне (Bekedam and col. 2006).



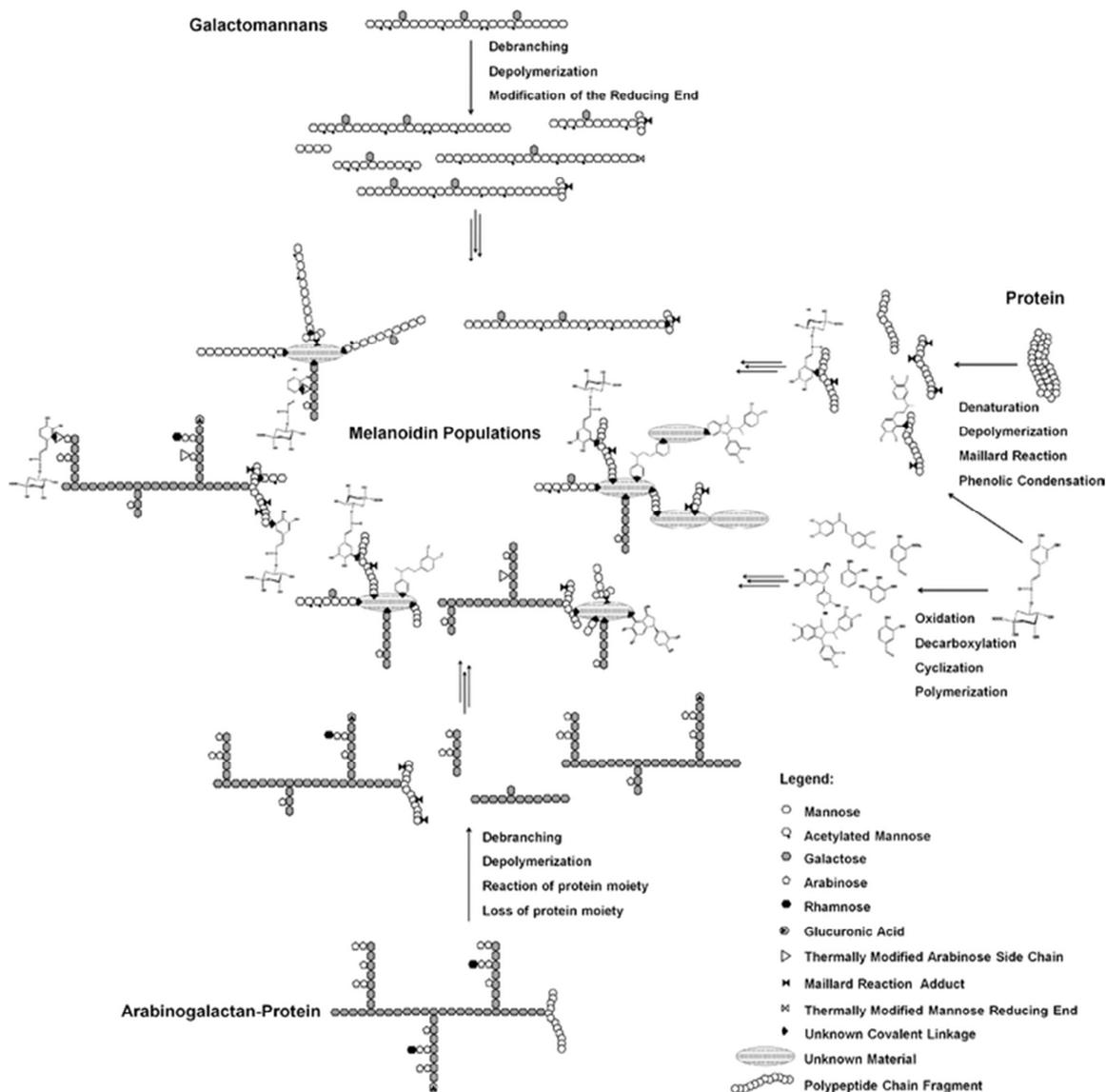
Фиг. 6. Схема за пречистване на меланоидини, изолирани от термично обработено кафе

Фиг. 7 схематично показва механизма за реакцията, като се използват настоящите познания и хипотезите, на химическите реакции, настъпили в суровото зелено кафе и по време на термичната обработка на печено кафе при различни термични режими. Отбелязани са начините на преобразуване на различните химични компоненти, които се включват в меланоидиновите структури, както и структурните детайли на меланоидините, и са обсъдени в рамките на настоящото преразглеждане.

За яснота структурите на различни съставни части (полизахариди, протеинов материал и фенолни съединения) не са изготвени в подробности, а основно са дадени за всяка група известни меланоидини. Въпреки че са постигнати значителни подобрения за познанията на структурите и механизмите на образуване на меланоидините, в последните години много подробности все още липсват. Един от въпросите, който остава да се отговори, е това, какви са видовете връзки между трите основни известни съставки на меланоидините, изолирани от термично обработено кафе: полизахариди, протеини и фенолни съединения. В допълнение подробните структури на фенолните остатъци, присъстващи в този вид меланоидини все още остават неизвестни. Другият въпрос, на който трябва да се отговори, е естеството на изолирания материал, който може да допринесе до 90% до съдържанието на меланоидините с определено високо молекулно тегло. Тази област на изследвания е с нарастващ интерес, затова се очаква, че на тези въпроси скоро ще бъде отговорено.

Въпреки това меланоидините, образуващи се при печенето на кафето, също съдържат ковалентно свързани фенолни съединения. Това твърдение се основава на опити с фракции, които са били предварително предоставени на високоефективна течна хроматография с обратна фаза, за да се провери отсъствието на не-ковалентно свързана хлорогенна киселина. Тези фракции, когато се получават чрез алкален синтез (Нунес и Коимбра 2007 метод, с който се освобождават фенолните структури (Newhall and Ting 1967; Batistic and Mayaudon 1970), са освободени редица прости феноли. Други фенолни съединения като фенол, 2-хидроксибензоена киселина, 4-хидроксифенилоцетна киселина и 4-hydroxyphenylpropanoic киселина са открити в много малки количества. Тези мономерни фенолни съединения, освободени от алкален синтез, са отчетени като 2.6-3.2.0 % от меланоидините съдържащи се в печено кафе. Интересното е, че тези съединения са подобни на тези, докладвани за алкално сливане на фракции меланоидини, получени чрез утаяване с цинк (Такенака и др. 2005 г.). Алкалното осапунване, дори при 100° C, не освобождава измерими количества кафеена

и ферулова киселини. Тези фенолни съединения следва да се каже, че са ковалентно свързани към меланоидините в кондензирани конструкции.



Фиг. 7. Реакционна схема на образуване кафе меланоидин

Наличието на фенолни съединения и реакционни продукти Maillard оказват положителни физиологични ефекти върху човешкия организъм от консумацията на кафе и са обяснени с антиоксидантните им свойства (Borghetti, Висконти, Mennella, Anese, & Fogliano, 2002; Daglia, Papetti, Gregotti, Bertè, & Gazzani, 2000; Delgado-Andrade, Rufián-Enarres, и Моралес, 2005). Научните проучвания в тази област са установили, че при среден прием на кафе (5 чаши еспreso на ден), кафето е в състояние да увеличи значително плазмената концентрация на глутатиона (Espósito and col., 2003). Приносът на потреблението на кафе с цялостния прием на антиоксиданти може да достигне до 70% в западните диети (Torres & Farah, 2010), но също така представлява значителна част от дневния прием на фибри (Díaz-Rubio & Sawra-Calixto, 2007).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bekedam, E.K.; Schols, H.A.; Van Boekel, M.A.J.S. Smit, G. (2008). Incorporation of chlorogenic acids in coffee brew melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 2055-2063. 23 Bekedam E. K., M. P. F. C. De Laat, H. A. Schols, M. A. J. S. Van Boekel and G. Smit, (2007). *J. Agric. Food Chem.*, 55, 761–768.
2. Bekedam E. K., H. A. Schols, M. A. J. S. van Boekel and G. Smit, (2006)., *J. Agric. Food Chem.*, 54, 7658–7666.
3. Borrelli, R.C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2004). Characterization of a New potential functional ingredient: Coffee silverskin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1338–1343.
4. Borrelli, R.C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., & Fogliano, V. (2002). Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 6527–6533.
5. Bartell, C., M. Mesías, F.J. Morales. (2015). Investigation on the extractability of melanoidins in portioned espresso coffee. C. Bartel, M. Mesías, F.J. Morales / *Food Research International* 67 (2015) 356–365
6. Brinckerhoff, C.E.; Matrisian, L.M.(2002). Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2002, 3, 207-214.
7. Cilliers JL, Singleton VL (1989) Nonenzymic autoxidative phenolic browning reactions in a caffeic acid model system. *J Agric Food Chem* 37:890–896
8. Cilliers JL, Singleton VL (1991) Characterization of the products of nonenzymic autoxidative phenolic reactions in a caffeic acid model system. *J Agric Food Chem* 39:1298–1303
9. Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Bertè, F., & Gazzani, G. (2000). In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1449–1454.
10. Delgado-Andrade, C., & Morales, F.J. (2005). Unraveling the contribution of melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1403–1407.
11. Galeone, C.; Turati, F.; La Vecchia, C.; Tavani, A. (2010). Coffee consumption and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of case-control studies. *Cancer Causes & Control*, 21, 1949-1959.
12. Je, Y.J.; Liu, W.; Giovannucci, E. (2009). Coffee consumption and risk of colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *International Journal of Cancer*, 124, 1662-1668.
13. Higdon, J.V.; Frei, B. Coffee and health: A review of recent human research. *Crit. (2006) Rev., Food Sci. Nutr.*, 46, 101-123.
14. Esposito, F., Verde, V., Alezio, A., Ritieni, A., Manzocco, L.; Calligaris, S.; Mastrocola, D.; Nicoli, M.C.; Lerici, C.R. (2001). Review of non enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 1, 340-Morisco, F., Caporaso, N., et al. (2003). Coffee consumption increases plasma glutathione and not homocysteine in healthy volunteers. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 17, 595–601.
15. Farah, A. (2012). Coffee Constituents. In Y.F. Chu (Ed.), *Coffee. Emerging health effects and disease prevention* (pp. 21–58). Iowa, USA: John Wiley & Sons and Institute of Food Technologists
16. Je, Y.J.; Liu, W.; Giovannucci, E. (2009). Coffee consumption and risk of colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *International Journal of Cancer*, 124, 1662-1668.

17. Leticia Missagia DeMarco, Sarah Fischer, and Thomas Henle, (2011). High Molecular Weight Coffee Melanoidins are Inhibitors for Matrix Metalloproteases . J. Agric. Food Chem., Just Accepted Manuscript.
18. Martins S. I. F. S., W. M. F. Jongen and M. A. J. S. van Boekel, (2000). Trends Food Sci. Technol., 11, 364–373.
19. Morales, F.J. (2005). Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 7832–7836.
20. Morales, F.J., Somoza, V., & Fogliano, V. (2012). Physiological relevance of dietary melanoidins. Amino Acids, 42, 1097–1109.
21. Moreira, A.S.P., Nunes, F.M., Domingues, M.R., & Coimbra, M.A. (2012). Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. Food & Function, 3, 903–915.
22. Michels, K.B.; Willett, W.C.; Fuchs, C.S.; Giovannucci, E. (2005). Coffee, tea, and caffeine consumption and incidence of colon and rectal cancer. J. Natl. Cancer Inst., 97, 282-292.
23. Nunes, F.M., & Coimbra, M.A. (2007). Melanoidins from coffee infusions. Fractionation, chemical characterization, and effect of the degree of roast. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 3967–3977.
24. Nunes, F.M.; Coimbra, M.A. (2002) Chemical characterization of the high-molecular-weight material extracted with hot water from green and roasted robusta coffees as affected by the degree of roast. J. Agric. Food Chem., 50, 7046-7052.
25. Nunes, F.M., Cruz, A.C.S., & Coimbra, M.A. (2012). Insight into the mechanism of coffee melanoidin formation using modified “in bean” models. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 8710–8719.
26. Nunes M. Fernando, M.A. Coimbra, (2010). Role of hydroxycinnamates in coffee melanoidin formation. Phytochemistry Reviews, Volume 9, 171 -185.
27. Rizzi GP, Boekley LJ (1992) Observation of ether linked phenolic products during thermal degradation of ferulic acid in the presence of alcohols. J Agric Food Chem 40:1666–1670.
28. Rufian-Henares, J.A.; Morales, F.J. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of coffee melanoidins. (2007). J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 1480-1485.