

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Тищенко Екатерины Александровны

«Оценка качества растворимого кофе по суммарным показателям и содержанию индивидуальных компонентов»,

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Растворимый кофе является широко потребляемым напитком благодаря экспрессности приготовления, полезности и приближенности его органолептических свойств к исходному сырью. Качество растворимого кофе зависит не только от сохранившихся в готовом продукте водорастворимых соединений, но и от компонентов, образовавшихся в процессе его производства. Существующая оценка основана преимущественно на контроле показателей безопасности и органолептических характеристиках, а из физико-химических показателей регламентированы только содержание кофеина, глюкозы и ксилозы. Общий алгоритм выявления и отбора обобщенных и индивидуальных показателей качества этого напитка до сих пор не разработан. Недостаточно изучен и химический состав растворимого кофе. Все это указывает на **актуальность** диссертационного исследования Тищенко Е.А., в котором ставятся и решаются обозначенные проблемы.

Диссертационная работа Тищенко Е.А. изложена на 162 страницах машинописного текста и содержит три главы. В *первой* (обзор литературных данных) — рассматриваются вопросы химического состава кофейного зерна и методы определения биологически активных соединений растворимого кофе. Диссертантом отмечается, что имеющиеся публикации в основном посвящены изучению показателей качества молотого жареного кофе, а для растворимого кофе публикации весьма малочисленны. Проведен сопоставительный анализ литературных данных по компонентному составу жареного и растворимого кофе и выбраны соединения, содержание которых в этих продуктах существенно различаются, что могло быть обусловлено влиянием технологических факторов при производстве кофе. На основании анализа литературных данных автором работы конкретизирована цель диссертационного исследования: обоснование выбора индивидуальных и обобщенных показателей качества растворимого кофе, а также разработка методик их определения и изучение взаимосвязей между предложенными показателями. Это, в свою очередь, позволило бы предложить методики

хроматографического определения состава растворимого кофе для решения классификационных задач при проведении экспертизы.

Вторая глава посвящена материалам, оборудованию, методикам определения биологически активных веществ в составе растворимого кофе и его железовосстанавливающей способности. В специальном разделе рассмотрены пути определения такого показателя как индекс обжарки.

В *третьей главе* обсуждаются полученные автором результаты. Растворимый кофе — высушенный водный экстракт молотого жареного кофе, в котором содержится 40-45 % водорастворимых аналитов. При разработке подхода по выявлению и отбору веществ-маркеров, характеризующих качество растворимого кофе, диссертант опирался на особенности постадийного формирования его состава в процессе производства, базируясь на оценке изменения характеристик кофе при переходе от сырья к готовому продукту.

Так, обжаривание кофейных зерен — неотъемлемый этап производства растворимого кофе — вызывает изомеризацию и разрушение хлорогеновых кислот до гидроксифенолов и тригонеллина с последующим образованием меланоидинов, ароматических и низкомолекулярных фенольных соединений. Для доказательства «технологической» природы образования катехола методом капиллярного электрофореза (КЗЭ) определено содержание этого аналита и хлорогеновых кислот (ХГК) в образцах молотого зеленого и изготовленных из него образцов жареного кофе со слабой, средней и сильной степенями обжаривания. Обнаружено, что с увеличением степени обжаривания кофе наблюдается уменьшение содержания КХК и увеличение катехола.

О качестве готового продукта можно судить как по содержанию в нем индивидуальных соединений, так и по интегральным показателям. С точки зрения оценки качества растворимого кофе важным является определение не только биологически активных компонентов в кофе, например, полифенолов, проявляющих антиоксидантную активность, но и соединений, формирующих органолептические свойства продукта — меланоидинов. Для оценки содержания последних в работе использован т.н. индекс обжарки — значение оптической плотности раствора кофе при длине волны $\lambda=420$ нм. Показано, что значения индекса обжарки для образцов растворимого кофе одного наименования и разных партий практически одинаковы, что характеризует стабильность технологических процессов производства данного продукта.

Экстрагируемые в процессе производства растворимого кофе из молотых жареных зерен компоненты концентрируются во время высушивания экстракта. Диссертантом

предложено рассчитывать степень концентрирования компонента как отношение его содержания в растворимом кофе к содержанию в жареном, и в зависимости от значения этого параметра проводить выбор веществ-маркеров. Для соединений, не претерпевающих изменений в процессе экстракции и сушки, рассчитанная степень концентрирования близка к 2.5, а отклонение от этого значения обусловлено влиянием технологических процессов на формируемый состав продукта. Такой подход позволил Тищенко Е.А. выявить и отобрать вещества-маркеры: кофеин, определяющий качество сырья; никотиновая кислота и меланоидины – компоненты «технологической» природы; 3-О-кофеилхинная и 5-О-кофеилхинная кислоты, характеризующие как качество сырья, так и технологические особенности его производства.

Диссертантом учтено, что при оценке качества продукта необходимо принимать во внимание и соотношения между содержаниями некоторых соединений, что позволяет оценивать подлинность продукта. Методом множественной линейной регрессии на основе данных ВЭЖХ-анализа двадцати четырех образцов растворимого кофе разных коммерческих наименований установлена связь между индексом обжарки кофе и содержаниями катехола, кофеилхинных и никотиновой кислот. Интересной и оригинальной частью диссертационного исследования являются результаты по созданию «визуального образа» исследуемых объектов, обеспечивающих обнаружение образцов с истекшим сроком годности.

Для определения ионогенных и полярных биологически активных аналитов наряду с методом ВЭЖХ применялся метод капиллярного электрофореза (КЭ), выбор которого обусловлен возможностью эффективного разделения большого числа изомеров хлорогеновых кислот и их надежной идентификацией. Показана возможность экспрессного электрофоретического определения кофеилхинных кислот одновременно с катехолом и разработана электрофоретическая методика измерений массовой концентрации никотиновой кислоты в пробах растворимого кофе с применением стэкинга с большим объемом образца с фактором концентрирования 70. Анализ данных показал, что суммарное содержание кофеилхинных кислот, полученное методом КЭ, и сумма содержаний шести изомеров КХК, рассчитанная по данным ВЭЖХ-УФ анализа, хорошо согласуются. Правильность электрофоретического определения суммарного содержания кофеилхинных кислот в растворимом кофе подтверждена методом ВЭЖХ-УФ-МС, выбранного в качестве референтного. Для аналитов фенольной природы использовался режим регистрации отрицательных ионов, при котором достигается более

высокая чувствительность определения, в то время как идентификация кофеина проводилась в режиме регистрации положительных ионов.

Другая интересная задача, решаемая диссертантом — определение суммарного содержания восстановителей органической природы. Для этого применен метод FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) с использованием индикаторной системы *Fe (III) – o-фенантролин*, основанный на способности антиоксидантов восстанавливать ион Fe^{3+} . Метилксантины (кофеин, теобромин и теofilлин) не вступают в окислительно-восстановительные реакции с индикаторными системами, содержащими окисленную форму железа ($Fe(III)$). Однако в процессе пищеварения они образуют метаболиты, проявляющие антиоксидантные свойства. Методами ORAC и ABTS диссертантом подтверждены антиоксидантные свойства метилмочевых кислот, являющихся метаболитами кофеина. На основании полученных результатов предложен и т.н. «ряд активности антиоксидантов».

Научная новизна диссертационной работы. Предложен подход по отбору и выявлению веществ-маркеров (*кофеилхинные кислоты, кофеин, катехол и никотиновая кислота*) качества растворимого кофе, базирующийся на оценке изменения характеристик кофе при переходе от сырья к готовому продукту с учетом физико-химических свойств компонентов и влияния факторов технологического процесса, приводящих к этим изменениям. Показана возможность экспрессного электрофоретического определения кофеилхинных кислот в растворимом кофе одновременно с катехолом и разработана методика измерений массовой концентрации никотиновой кислоты методом КЗЭ с применением стэкинга с большим объемом образца.

Практическая значимость. Методом КЗЭ-УФ с использованием стэкинга с большим объемом образца и обращением полярности (фактор концентрирования 70) разработана методика определения никотиновой кислоты, апробированная на различных образцах растворимого кофе. Разработанные методики могут быть применены в контрольно-аналитических лабораториях предприятий пищевой промышленности.

По тексту диссертационной работы возникли вопросы и замечания

1. При выполнении электрофоретических экспериментов крайне важно контролировать стабильность электроосмотического потока. Как это выполнялось?
2. В диссертационной работе утверждается, что «...для целей оценки качества продукта может быть ценна информация о суммарном содержании одинаковых по действию компонентов, а не каждого изомера. Поэтому была рассмотрена

- возможность суммарного определения КХК в растворимом кофе методом КЗЭ...». А разве методом ВЭЖХ, изменяя состав элюирующей системы, нельзя было решить данную проблему?
3. Утверждается, что «...анализ различных образцов растворимого кофе показал, что индекс обжарки варьируется в диапазоне 0.95 - 0.175 со средним значением 0.130 (стр. 111). Как это понимать? Это опечатка?
 4. Чем объяснить такие высокие коэффициенты концентрирования для изолимонной и пироглутаминовой кислот? (табл. 12, стр.68).
 5. Есть замечания и стилистического характера. Встречаются опечатки (стр.19;22;27;38;43;56;58;61;73;77;95 и др.) и неудачные выражения: *...нумерация углеродов в циклогексановом кольце* (стр. 13); *...олиго и полисахариды...реагируют восстанавливающим концом* (стр.38); *...изменения в количественном и качественном отношении...*(стр. 20); *1,3,7-метилмочевой кислотой* (стр. 27); что такое «*карбонитридный бромид*»(стр.43)? В тексте диссертации и в автореферате курсив избыточен; в подписи под хроматограммами отсутствуют условия.

Высказанные вопросы и замечания не сказались на самом благоприятном впечатлении от выполненной диссертационной работы. Получены интересные и значимые результаты. Предлагаемые в диссертационной работе такие взаимосвязанные показатели как содержание кофеилхинных кислот, катехола, никотиновой кислоты, железовосстанавливающая способность и индекс обжарки могут лечь в основу новой, наиболее чувствительной к технологическим особенностям производства системы оценки качества растворимого кофе.

Заключение. Диссертация Тищенко Е.А. является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий. Положения, выносимые на защиту, и выводы, сформулированные в диссертации, строго аргументированы и соответствуют экспериментальным данным.

Диссертация и автореферат оформлены согласно требованиям действующих нормативных документов. Работа прошла широкую апробацию. По теме диссертационной работы опубликовано 3 статьи в журнале, рекомендованном ВАК, и 7 тезисов докладов. Результаты диссертационного исследования доложены на представительных научных

конференциях. Содержание автореферата и опубликованных трудов диссертанта полностью отвечает содержанию диссертации.

На основании вышесказанного считаю, что диссертационная работа Тищенко Екатерины Александровны «Оценка качества растворимого кофе по суммарным показателям и содержанию индивидуальных компонентов» соответствует требованиям пункта 9-11,13,14 Положения о присуждении ученых степеней от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, как научно-квалификационная работа, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области хроматографического и электрофоретического определения биологически активных анализов. Автор работы Тищенко Екатерина Александровна достойна присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

30.11. 2018 г.

Карцова Людмила Алексеевна,
профессор, доктор химических наук
по специальности 02.00.02 - Аналитическая химия
профессор кафедры органической химии
Института химии

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

198504, Россия, Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский пр. 26, Институт химии СПбГУ; тел.: (812) 428 40 44; e-mail: kartsova@gmail.com

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА КАДРОВ №3



30.11.2018

