

INVESTIGAÇÃO DE NOVOS ÁCIDOS CLOROGÊNICOS E LACTONAS EM CAFÉ BRASILEIRO VERDE E TORRADO

Daniel PERRONE¹; Adriana FARAH¹, E-mail: afarah@iq.ufrj.br; Tomas de PAULIS²; Carmen M. DONANGELO¹

¹Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. ²Vanderbilt Institute for Coffee Studies, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, EUA

Resumo:

O café é a bebida mais consumida no mundo e uma fonte significativa de compostos fenólicos, principalmente ácidos clorogênicos (CGAs). Durante a torrefação do café, alguns CGAs são parcialmente transformados em lactonas clorogênicas (CGLs). Tanto os CGAs quanto as CGLs são compostos importantes para o sabor e potencialmente benéficos para a saúde humana. No presente trabalho, usando LC-MS e padrões sintéticos, foram investigados novos isômeros de CGAs e CGLs em amostras verdes e torradas de café das espécies *C. arabica* e *C. canephora*. Além dos CGAs e CGLs já previamente identificados, o ácido 1-feruloilquínico, a lactona 1-feruloilquínica e o ácido 3,4-diferuloilquínico foram identificados e quantificados pela primeira vez em *C. arabica* e *C. canephora*. O ácido 3,4-di-*p*-cumaruloilquínico também foi identificado pela primeira vez em *C. arabica*, não sendo observado em *C. canephora*. As implicações dessas descobertas em relação ao aroma, à qualidade e às propriedades biológicas do café devem ser ainda investigadas.

Palavras-chave: café, ácidos clorogênicos, lactonas, quinídios, LC-MS, torrefação de café.

INVESTIGATION OF NEW CHLOROGENIC ACIDS AND LACTONES IN BRAZILIAN GREEN AND ROASTED COFFEES

Abstract:

Coffee is the most consumed beverage in the world and a significant source of phenolic compounds, particularly chlorogenic acids (CGA). During coffee roasting, some CGA are partially transformed into chlorogenic acid lactones (CGL). Both CGA and CGL are important compounds for flavor and potentially beneficial to human health. In the present study, using LC-MS and synthetic standards, we investigated new CGA and CGL isomers in green and roasted *C. arabica* and *C. canephora* coffee cultivars. In addition to previously identified CGA and CGL, 1-feruloylquinic acid, 1-feruloylquinic lactone and 3,4-diferuloylquinic acid were identified and quantified for the first time in *C. arabica* and *C. canephora*. 3,4-di-*p*-coumaroylquinic acid was also identified for the first time in *C. arabica* but not in *C. canephora*. The implications of these findings for flavor, cup quality and the biological properties of coffee merit further investigation.

Key words: coffee, chlorogenic acids, lactones, quinides, LC-MS, coffee roasting.

Introdução

Os ácidos clorogênicos (CGAs) são os principais compostos fenólicos do café, sendo ésteres de ácidos *trans*-cinâmicos, como os ácidos caféico, ferúlico e *p*-cumárico, com o ácido (–)-quínico (QA) (Figura 1). Os CGAs podem ser subdivididos de acordo com a natureza e o número de substituintes cinâmicos e as suas posições de esterificação no anel ciclohexano do QA. As principais classes de CGAs em café verde são os ácidos cafeoilquínicos (CQAs), dicafeoilquínicos (diCQAs), feruloilquínicos (FQAs), *p*-cumaruloilquínicos (*p*-CoQAs) e cafeoilferuloilquínicos (CFQAs). Classes minoritárias, como os ácidos diferuloilquínicos (diFQAs), di-*p*-cumaruloilquínicos (di-*p*-CoQAs), dimetoxicinamoilquínicos e outras, que somadas correspondem a menos de 1% do conteúdo total de CGAs, foram identificadas recentemente (Clifford, Marks, Knight & Kuhnert, 2006). Apesar dos CGAs encontrarem-se amplamente distribuídos em materiais de origem vegetal, o seu conteúdo em café verde é um dos maiores encontrados entre as plantas, variando entre 4 e 14% (Farah & Donangelo, 2006), com 45 CGAs diferentes já tendo sido identificados (Clifford *et al.*, 2006).

Os CGAs são importantes na formação do aroma do café torrado e têm grande influência sobre a qualidade final da bebida (Farah, Monteiro, Calado, Franca & Trugo, 2006). Além disso, diversos efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídos aos CGAs, sendo que tais efeitos poderiam ser explicados principalmente pela potente atividade antioxidante desses compostos (Moreira, Monteiro, Ribeiro-Alves, Donangelo & Trugo, 2005). Algumas das propriedades farmacológicas *in vitro* e *in vivo* dos CGAs são as atividades hipoglicêmica, antiviral, hepatoprotetora e imunoprotetora (Farah & Donangelo, 2006).

Durante a torrefação do café, os CGAs são parcialmente degradados por pirólise, gerando lactonas fenólicas e outros derivados. Cinamoil-1,5- γ -quinolactonas (CGLs) são as principais lactonas de CGAs no café torrado, sendo produzidas através da perda de uma molécula de água e formação de uma ligação éster intramolecular entre os carbonos 1 e 5 do QA (Farah, de Paulis, Trugo & Martin, 2005). Juntamente com os CGAs, as CGLs também contribuem para o aroma

do café e, apesar de estarem presentes em baixas concentrações, seu impacto na qualidade final da bebida pode ser significativo. As CGLs também foram estudadas pelos seus potenciais efeitos hipoglicêmicos (Shearer *et al.*, 2003) e por suas ações nos receptores opióides e de adenosina cerebrais (de Paulis *et al.*, 2004).

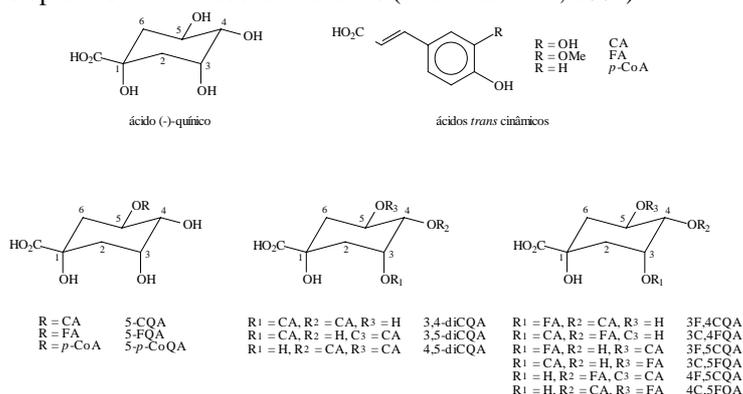


Figura 1 – Estrutura dos precursores dos ácidos clorogênicos (ácido quínico, CA = ácido caféico, FA = ácido ferúlico, *p*-CoA = ácido *p*-cumárico) seguido das principais subclasses de CGAs: ácidos cafeoilquínicos (CQAs), feruolquínicos (FQAs), *p*-cumarolquínicos (*p*-CoQAs) (exemplo dos isômeros de posição 5 para os monoésteres), dicafeoilquínicos (diCQAs) e cafeoilferuolquínicos (CFQAs).

Utilizando HPLC e padrões sintéticos, estudou-se previamente a formação das CGLs durante a torrefação dos cultivares *C. arabica* Bourbon e Longberry do Brasil e Etiópia, respectivamente, e durante a torrefação de *C. canephora* cv. Robusta de Uganda (Farah *et al.*, 2005). No presente trabalho, usando LC-MS e padrões sintéticos, foi investigada a ocorrência de um número maior de CGAs e CGLs majoritários e minoritários em amostras verdes e torradas de cafés brasileiros dos cultivares *C. arabica* Mundo Novo e Catuaí Vermelho e *C. canephora* Conillon.

Material e Métodos

Amostras de café. Amostras de café verde de boa qualidade (bebida estritamente mole) dos cultivares *C. arabica* Mundo Novo e Catuaí Vermelho e *C. canephora* Conillon foram obtidas diretamente de produtores de café de Guaxupé, Minas Gerais, Brasil.

Torrefação. As amostras de café (~100 gramas) foram torradas em um torrador de leito fluidizado em condições brandas (170 °C por 6, 8, 12 e 15 min), de maneira a produzir graus de torra que variaram do muito-claro ao médio. Também foi selecionada a condição de torra de 200 °C por 15 min para produzir um grau de torra escuro.

Perda percentual de massa. A perda percentual de massa (%PM) dos grãos de café após a torrefação foi calculada subtraindo-se o peso da amostra após a torrefação do peso da amostra antes da torrefação e dividindo-se o resultado pelo peso da amostra antes da torrefação, expressando-se o resultado final em valor percentual.

Umidade. Para expressar o conteúdo de CGAs e CGLs em base seca, o teor de água dos grãos verdes e torrados moídos foi determinado de acordo com o método da AOAC (AOAC, 2000).

Extração de CGAs e CGLs. Os grãos de café verde e torrados foram congelados antes da moagem. As amostras foram moídas de maneira a passarem por uma peneira de 0,46 mm e extraídas em duplicata de acordo com a metodologia descrita por Farah *et al.* (2005).

LC-MS. Os extratos contendo os CGAs e as CGLs foram analisados de acordo com o método descrito recentemente por Farah, de Paulis, Moreira, Trugo & Martin (2006). O cromatógrafo (Shimadzu, Kyoto, Japão) foi composto por uma bomba quaternária LC-10ADvp, um forno para colunas CTO-10ASvp, um injetor manual 8125 (Rheodyne) contendo uma alça volumétrica de 5 µL e um detector de arranjo de diodos SPD-M10Ayp. Esse sistema foi interfaciado com um espectrômetro de massas LC-MS 2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com uma fonte de ionização por eletronspray.

Resultados e Discussão

Utilizando LC-MS e padrões sintéticos, investigou-se novos CGAs e CGLs majoritários e minoritários em amostras brasileiras de café verde e torrado (espécies *C. arabica*, cv. Mundo Novo e cv. Catuaí Vermelho e *C. canephora*, cv. Conillon).

Além dos CGA e CGL previamente identificados, 1-FQA, 1-FQL e 3,4-diFQA foram identificados e quantificados pela primeira vez em *C. arabica* e *C. canephora*. O ácido 3,4-di-*p*-cumarolquínico foi identificado pela primeira vez em *C. arabica*, não estando presente na amostra de *C. canephora*. Além desses compostos, outros possíveis isômeros de CGAs e CGLs também foram observados nas amostras analisadas, sendo discutidos a seguir:

Novos isômeros de CGAs e CGLs em *Coffea arabica*. Como os perfis cromatográficos dos possíveis novos isômeros de CGAs e CGLs foram similares em ambos as cultivares analisados (Mundo Novo e Catuaí Vermelho), somente o perfil do cultivar Mundo Novo é apresentado e discutido em seguida. Os cromatogramas de monitoramento seletivo de íons (SIM) para as amostras verde e torradas de *C. arabica* cv. Mundo Novo são apresentadas na Figura 2.

Ácidos cafeoilquínicos apenas os três CQAs foram identificados nos grãos verdes (3-CQA, mais oito possíveis I–VIII) foram identificados no café torrado (~14% perda

(CQAs). Ao passo que principais isômeros de identificados nos 4-CQA e 5-CQA), novos isômeros (picos observados em café de massa) (Figura 2a).

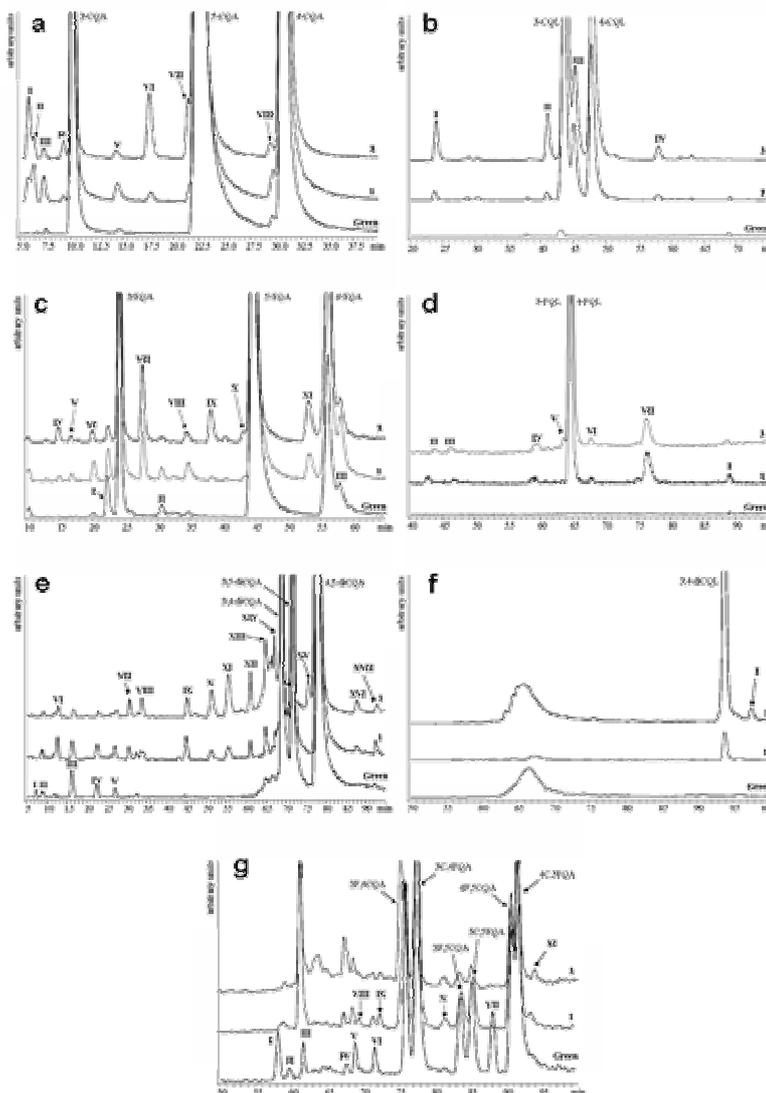


Figura 2 – Cromatogramas SIM para as amostras verde e torradas (1 = 170 °C, 6 min.; 3 = 170 °C, 12 min.) de *C. arabica* cv. Mundo Novo: (a) $m/z = 353$, CQA; (b) $m/z = 335$, CQL; (c) $m/z = 367$, FQA; (d) $m/z = 349$, FQL; (e) $m/z = 515$, diCQA; (f) $m/z = 497$, diCQL; (g) $m/z = 529$, CFQA.

Entre esses compostos, a área do pico VI sobressaiu-se em relação aos outros compostos ainda não identificados do café. Seu teor nas amostras verdes e torradas de *C. arabica* cv. Mundo Novo, *C. arabica* cv. Catuaí Vermelho e *C. canephora* cv. Conillon apresentadas na Tabela 1. O conteúdo do isômero CQA VI é relevante em comparação com outras classes de CGA, sendo, por exemplo, quase tão abundante quanto o teor total de *p*-CoQA. Este composto não seria, portanto, considerado um CGA minoritário no café.

Os possíveis novos isômeros de CQAs podem se originar a partir de diferentes mecanismos de isomerização. Isômeros de CQAs diferentes de 3-, 4- e 5-CQA já foram previamente observados em diferentes matrizes alimentares. Em geral, isômeros de CQAs minoritários podem ser estereoisômeros dos três CQAs majoritários. Esses estereoisômeros podem ser isômeros *cis* do ácido caféico, ou possivelmente, diferentes formas conformacionais do ácido quínico, que possui hidroxilas axiais nos carbonos 1 e 3, e hidroxilas equatoriais nos carbonos 4 e 5. Já foi relatado que, durante a torra, ocorre a racemização do ácido quínico, com a geração de pelo menos seis diferentes estereoisômeros (Scholz-Böttcher *et al.*, 1991).

Lactonas cafeoilquínicas (CQLs). Além dos dois isômeros principais de CQLs (3-CQL e 4-CQL), quatro possíveis novos isômeros (picos I–IV) foram observados em amostras de café torradas (**Figura 2b**). Em geral, como a eliminação de uma molécula de água do anel de seis membros do ácido quínico requer uma configuração *syn*-1,3-diaxial dos grupos hidroxila e carboxila, apenas os isômeros não-substituídos na posição 5 do ácido quínico são capazes de formar 1,5- γ -lactonas durante a torrefação (Farah *et al.*, 2005). Entretanto, outras lactonas podem ser formadas a partir de CGAs que sofreram

racemização da porção do ácido quínico. Para esses estereoisômeros de CGAs, 1,5-*epi*- γ , 1,5-*muco*- γ - e 1,5-*neo*- γ -lactonas podem ser formadas. Além disso, estereoisômeros não-substituídos na posição 4 do ácido quínico podem sofrer esterificação intramolecular, gerando 1,4-*epi*- δ -, 1,4-*scyllo*- δ - e 1,4-*neo*- δ -lactonas (Scholz-Böttcher *et al.*, 1991).

Ácidos feruloilquínicos (FQAs). Além dos três isômeros majoritários de FQAs (3-FQA, 4-FQA e 5-FQA), três possíveis novos isômeros de FQAs (picos I–III) foram observados em café verde, enquanto oito possíveis novos isômeros (picos IV–XI) foram identificados em café torrado (Figura 2c). O pico IV foi identificado, pela primeira vez, como sendo o 1-FQA.

Tabela 1 – Teores de novos ácidos clorogênicos (CGAs) e lactonas clorogênicas (CGLs) em amostras brasileiras verde e torradas de *C. arabica* e *C. canephora*^a

Condição de torrefação ^b	Perda de massa (%)	CQA VI	1-FQA	1-FQL
<i>C. arabica</i> cv. Mundo Novo				
Verde	0,0	ND ^c	ND	ND
1	11,5	1,4±0,0	ND	0,5±0,0
2	13,6	5,6±0,3	0,6±0,0	1,2±0,0
3	15,4	11,3±0,1	0,7±0,0	1,1±0,1
4	16,1	12,2±0,2	0,5±0,1	1,0±0,1
5	19,9	4,9±0,0	0,4±0,1	0,9±0,2
<i>C. arabica</i> cv. Catuaí Vermelho				
Verde	0,0	ND	ND	ND
1	10,4	1,6±0,2	0,4±0,0	0,6±0,1
2	11,7	4,8±0,0	0,6±0,1	1,7±0,3
3	14,1	11,2±0,6	0,6±0,2	1,7±0,4
4	15,0	13,8±3,9	0,3±0,0	1,7±0,3
5	17,9	7,3±0,9	ND	1,1±0,3
<i>C. canephora</i> cv. Conillon				
Verde	0,0	ND	ND	ND
1	10,3	3,3±0,0	0,7±0,1	1,3±0,4
2	11,7	7,9±0,2	1,2±0,3	2,9±0,3
3	13,2	13,5±0,2	1,4±0,3	4,0±0,2
4	13,9	16,0±0,1	1,2±0,0	3,1±0,7
5	16,8	8,0±0,1	0,5±0,0	3,3±0,5

^a Resultados foram apresentados como as médias de extração em duplicata \pm desvio-padrão e expressos como mg/100g de café (peso seco), com exceção da 1-FQL, que foi expresso como μ g/100g de café (peso seco).

^b 1 = 170 °C, 6 min.; 2 = 170 °C, 8 min.; 3 = 170 °C, 12 min.; 4 = 170 °C, 15 min.; 5 = 200 °C, 15 min. ^c Não detectado.

O teor desse composto em amostras verdes e torradas de *C. arabica* cv. Mundo Novo, *C. arabica* cv. Catuaí Vermelho e *C. canephora* cv. Conillon é apresentado na Tabela 1. O 1-FQA foi detectado apenas em amostras torradas e estava presente em teores muito mais baixos dos que os outros isômeros de FQAs. Em todos os graus de torrefação, a espécie *C. canephora* apresentou níveis maiores desse composto do que a espécie *C. arabica*, com teores máximos de 0,7, 0,6 e 1,4 mg/100g de café nas amostras de *C. arabica* cv. Mundo Novo, *C. arabica* cv. Catuaí Vermelho e *C. canephora* cv. Conillon, respectivamente. Tais teores foram encontrados nas amostras com perdas de massa de 15,4%, 14,1% e 13,2%, respectivamente. Assim como para os CQAs, os outros estereoisômeros de FQAs poderiam ser decorrentes da isomerização *cis* do ácido ferúlico ou de possíveis produtos de racemização do ácido quínico.

Lactonas feruloilquínicas (FQLs). Além dos dois principais isômeros de FQLs (3-FQL e 4-FQL), sete possíveis novos isômeros de FQLs (picos I–VII) foram observados em café torrado (Figura 2d). O pico VI foi identificado e quantificado, pela primeira vez, como 1-FQL. O teor de 1-FQL nas amostras verdes e torradas de *C. arabica* cv. Mundo Novo, *C. arabica* cv. Catuaí Vermelho e *C. canephora* cv. Conillon são apresentadas na Tabela 1. A 1-FQL foi detectada somente em amostras torradas e estava presente em quantidades-traço, extremamente menores do que a dos outros isômeros de FQLs. Em todas as amostras torradas, *C. canephora* apresentou níveis maiores desse composto do que *C. arabica*, com teores máximos de 1,2, 1,7 e 4,0 μ g/100g de café nas amostras de *C. arabica* cv. Mundo Novo, *C. arabica* cv. Catuaí Vermelho e *C. canephora* cv. Conillon, respectivamente. Tais teores foram encontrados em amostras com perdas de massa de 13,6%, 14,1% e 13,2%, respectivamente. De maneira análoga às CQLs, os estereoisômeros de FQLs restantes podem ser formados a partir de FQAs que sofreram racemização do ácido quínico ou lactonização entre os carbonos 1 e 4 do ácido quínico (Scholz-Böttcher *et al.*, 1991).

Ácidos dicafeoilquínicos (diCQAs). Além dos três isômeros majoritários de diCQAs (3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA), cinco possíveis novos isômeros de diCQAs (picos I–V) foram observados em café verde (Figura 2e). Além desses, doze possíveis novos isômeros (picos VI–XVII) foram identificados em amostras torradas, totalizando dezessete possíveis novos isômeros de diCQAs. Devido ao grande número de permutações estruturais possíveis, esperar-se-ia uma variedade maior de isômeros minoritários de diCQAs em comparação com CQAs. Utilizando LC-MS⁴, Clifford, Knight & Kuhnert (2005) identificaram seis isômeros de diCQAs, incluindo três isômeros minoritários substituídos na posição 1 (1,3-diCQA, 1,4-diCQA e 1,5-diCQA) além dos três isômeros principais. Esses isômeros 1-substituídos, juntamente com derivados do ácido *cis*-caféico e isômeros conformacionais do ácido quínico, podem corresponder à maioria dos possíveis novos isômeros de diCQAs observados.

Lactonas dicafeoilquínicas (diCQLs). Em café torrado, além do isômero principal de diCQL (3,4-diCQL), nós observamos um novo possível isômero de diCQL (pico I) (Figura 2f). Considerando-se a grande diversidade observada de possíveis novos isômeros de diCQAs, esperar-se-ia desenvolvimento de um número maior de isômeros de diCQLs. A ausência dos mesmos poderia ser explicada pelo fato de que as diCQL não parecem ser os produtos preferenciais de transformação dos diCQAs durante a torrefação do café.

Ácidos cafeoilferuloilquínicos (CFQAs). Além dos seis principais isômeros de CFQAs (3-F,4-CQA, 3-C,4-FQA, 3-F,5-CQA, 3-C,5-FQA, 4-F,5-CQA e 4-C,5-FQA) descritos por Clifford *et al.* (2003) e identificados em café verde, sete possíveis novos isômeros de CFQAs (picos I–VII) foram observados em café verde (Figura 2g). Em café torrado, além desses, quatro possíveis novos isômeros de CFQAs (picos VIII–XI) foram observados, totalizando onze possíveis novos isômeros de CFQAs. Entre os CGAs estudados, os CFQAs deveriam apresentar o maior número de novos isômeros, devido ao maior número possível de variações estruturais. Entretanto, as suas baixas concentrações tornam difícil a identificação de todos os possíveis isômeros.

Novos isômeros de CGAs e CGLs em *Coffea canephora*. Em geral os perfis cromatográficos dos novos isômeros de CGAs e CGLs nas amostras de *C. canephora*, var. Conillon e *C. arabica* foram similares, com pequenas diferenças entre essas duas espécies para as classes FQLs, diCQAs, diCQLs e CFQAs.

Em relação às FQLs, apesar do mesmo número de possíveis novos isômeros ter sido identificado em ambas as espécies, o isômero I já estava presente na amostra verde de *C. canephora*, mas foi somente observado nas amostras torradas de *C. arabica*.

Alguns possíveis novos isômeros de diCQAs observados em *C. arabica* não foram encontrados entre os novos isômeros em *C. canephora*. Em contrapartida, entre os quatro possíveis novos isômeros de diCQLs que foram observados em *C. canephora*, três deles não foram encontrados nas amostras de *C. arabica*.

Finalmente, observou-se nove possíveis novos isômeros de CFQAs na amostra de *C. canephora*, sendo alguns deles apenas encontrados nessa amostra e outros também encontrados nas amostras de *C. arabica*.

Conclusões

No presente trabalho, um total de oitenta e nove CGAs e CGLs majoritários e minoritários foram observados, dos quais vinte e nove, já previamente observados em café, foram quantificados. Adicionalmente, 1-FQA, 1-FQL e 3,4-diFQA foram identificados e quantificados pela primeira vez em *C. arabica* e *C. canephora*, var. Conillon. 3,4-di-*p*-CoQA também foi identificado pela primeira vez em cultivares de *C. arabica*, mas não estava presente em *C. canephora* cv. Conillon. A caracterização inequívoca dos CGAs e CGLs não identificados deve ser realizada pelas técnicas de LC-MSⁿ e/ou RMN.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro do CBP&D Café-EMBRAPA, do CNPq e da FAPERJ.

Referências bibliográficas

Clifford, M. N.; Marks, S.; Knight, S.; Kuhnert, N. Characterization by LCMSⁿ of four new classes of *p*-coumaric acid-containing diacyl chlorogenic acids in green coffee beans. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 4095–4101.

Farah, A.; Donangelo, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.* **2006**, *18*, 23–36.

Farah, A.; Monteiro, M. C.; Calado, V.; Franca, A.; Trugo, L. C. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chem.* **2006**, *98*, 373–380.

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**, *53*, 1399–1402.

Farah, A.; de Paulis, T.; Trugo, L. C.; Martin, P. R. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acids lactones in coffee. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1505–1513.

Shearer, J.; Farah, A.; de Paulis, T.; Bracy, D. P.; Pencek, R. R.; Graham, T. E.; Wasserman, D. H. Quinides of roasted coffee enhance insulin action in conscious rats. *J. Nutr.* **2003**, *133*, 3529–3532.

de Paulis, T.; Commers, P.; Farah, A.; Zhao, J.; McDonald, M. P.; Galici, R.; Martin, P. R. 4-Caffeoyl-1,5-quinide in roasted coffee inhibits [³H]naloxone binding and reverses anti-nociceptive effects of morphine in mice. *Psychopharm.* **2004**, *176*, 146–153.

Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 17th ed.; Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, **2000**.

Farah, A.; de Paulis, T.; Moreira, D. P.; Trugo, L. C.; Martin, P. R. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 374–381.

Scholz-Böttcher, B. M.; Ernst, L.; Maier, H. G. New stereoisomers of quinic acid and their lactones. *Liebigs. Ann. Chem.* **1991**, *10*, 1029–1036.

Clifford, M. N.; Knight, S.; Kuhnert, N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LCMSⁿ. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 3821–3832.

Clifford, M. N.; Johnston, K. L.; Knight, S.; Kuhnert, N. Hierarchical scheme for LCMSⁿ identification of chlorogenic acids. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2900–2911.