

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА В
АНАЛИТИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ НАПИТКОВ**

Выпускная квалификационная работа
обучающегося по направлению подготовки 04.03.01 Химия
очной формы обучения, группы 07001417
Шайдоровой Галины Михайловны

Научный руководитель:
к.п.н., доцент
Олейникова И. И.

БЕЛГОРОД 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	5
1.1 Кофеин. Влияние на организм	5
1.2 Методы определения кофеина в напитках	7
1.3 Капиллярный электрофорез. История развития	9
1.4 Основы метода.....	10
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	19
2.1 Материальное обеспечение	19
2.2 Методика эксперимента	20
3 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	27
ВЫВОДЫ.....	38
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	40

ВВЕДЕНИЕ

С древнейших времён люди использовали природные стимуляторы такие как, кофе, чай, мате, орехи кола, отвары лимонника и женьшеня.

Сегодняшний образ жизни отличается высокой скоростью, гиперактивностью и эмоциональными нагрузками, что приводит к перенапряжению всех систем организма. Для поддержания высокого ритма жизни и снятия усталости используются тонизирующие напитки.

Энергетики – безалкогольные напитки, содержащие биологически активные вещества и стимулирующие центральную нервную систему (ЦНС), приобрели высокую популярность среди современной молодёжи.

В состав энергетиков входят: кофеин, теобромин, теофиллин, витамины, глюкоза, сахароза, экстракты женьшеня и гуараны, большое количество угольной кислоты.

Кофеин – алкалоид пуринового ряда, который оказывает влияние на системы организма: усиливает сердечную деятельность, стимулирует возбуждение ЦНС, вызывает расширение кровеносных сосудов, снижает агрегацию тромбоцитов, повышает диурез. Известно, что в больших дозах вызывает истощение ЦНС, а при регулярном употреблении – привыкание.

Кофеин применяют при производстве всех известных сегодня энергетических напитков.

В последние годы энергетики набирают огромную популярность. При этом часто никто не задумывается о том, что это не просто тонизирующий и утоляющий жажду напиток, обладающий оригинальным вкусом и запахом. Сегодня энергетические напитки используют скорее как тонизирующие, к работе и работоспособности это уже не имеет никакого отношения. Их употребление уже должно регламентироваться нормами суточного потребления.

Современные медицинские исследования доказывают, что при большом количестве потребления эти напитки оказывают отрицательное влияние на организм человека – повышают артериальное давление и уровень сахара в крови. Впоследствии это может стать развитием серьезных заболеваний – гипертонии и сахарного диабета.

В настоящее время государство уделяет пристальное внимание к таким направлениям предпринимательской деятельности, при которых осуществляется оборот пищевых продуктов. Качество и безопасность потребления энергетиков в современном обществе вызывает множество вопросов.

В связи с этим представляются актуальными исследования по оценке качества и безопасности энергетиков с использованием современных инструментальных аналитических методов анализа.

Исходя из высокой значимости и актуальности данной проблемы, можно поставить цель исследования.

Цель исследования: изучить содержание кофеина в энергетических напитках разных производителей, реализуемых в торговой сети г. Белгорода.

Задачи:

1. Изучить литературу по теме исследования.
2. Произвести анализ образцов энергетических напитков методом капиллярного электрофореза.
3. Сопоставить полученные данные с медицинскими нормами и стандартом ГОСТ.
4. Оценить достоверность полученных результатов, используя метод разбавлений и стандартных добавок.

Объект исследования: энергетические напитки, реализуемые в торговой сети г. Белгорода.

Предмет исследования: содержание кофеина в образцах энергетических напитков.

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Кофеин. Влияние на организм

Кофеин (1,3,7-триметилксантин (и в виде натриябензоата), 2,6-диокси-1,3,7-триметилпурин) $C_8H_{10}N_4O_2$ (рис. 1.1.) – алкалоид пуринового ряда, содержится в листьях чая (~2%), семенах кофе (1-2%), орехах кола, плодах гуараны, какао бобах, луковицах морского лука.

Кофеин синтезируются в частях растений для предотвращения поедания насекомыми, а также для поощрения опылителей.

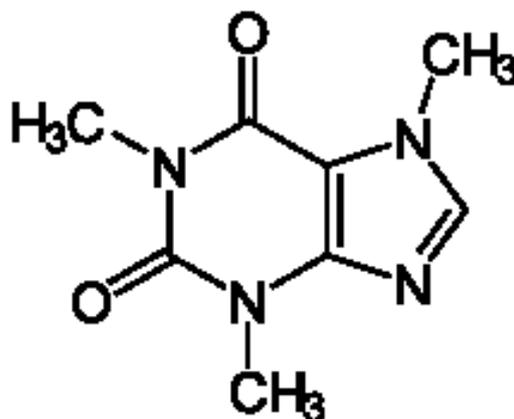


Рис. 1.1. Структурная формула кофеина

Белые шелковистые игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок горьковатого вкуса, без запаха [1].

Молярная масса: 194,19 г/моль.

Плотность: 1,23 г/см³.

Температура плавления: 238°C (безводный).

Температура кипения: 179°C.

Растворимость, г/100 мл: вода – 1,35; этанол – 2,30; эфир – 0,04; хлороформ – 14,2 [2].

Действие кофеина на организм, в частности на центральную нервную систему (ЦНС), было изучено И.П. Павловым.

Кофеин усиливает и регулирует процессы возбуждения в коре большого мозга – стимулирует положительные условные рефлексы и увеличивает двигательную активность; повышает умственную и физическую работоспособность, уменьшает усталость и сонливость. Большие дозы могут привести к истощению клеток. Дозирование кофеина должно производиться с учётом индивидуальных особенностей нервной деятельности. Кофеин ослабляет действие снотворных и наркотических средств, повышает рефлекторную возбудимость спинного мозга, возбуждает дыхательный и сосудодвигательный центры.

Сердечная деятельность под влиянием кофеина усиливается, сокращения миокарда становятся более интенсивными и частыми. Происходит расширение кровеносных сосудов скелетных мышц, сердца, почек, но сосуды органов брюшной полости и мозга суживаются.

Кофеин снижает агрегацию тромбоцитов.

В качестве лекарственного средства кофеин применяют при инфекционных и других заболеваниях, которые сопровождаются угнетением ЦНС и сердечно-сосудистой системы, при отравлениях наркотиками и другими ядами, при спазмах сосудов головного мозга, для повышения психической и физической работоспособности, для устранения сонливости [1].

Кофеин противопоказан при повышенной возбудимости, бессоннице, гипертензии, атеросклерозе, органических заболеваниях сердечно-сосудистой системы, глаукоме [3,4,5].

При злоупотреблении кофеин (более 300 мг в сутки, т.е. четыре чашки натурального кофе по 150 мл) может вызывать состояние тревоги, беспокойство, тремор, головную боль, спутанность сознания, сердечные экстрасистолы [6,7].

Безопасная дневная доза для организма 300 - 400 мг

Максимальная доза для взрослых внутрь: при разовом приёме 0,3 г.; суточная доза – 1г. [1].

1.2 Методы определения кофеина в напитках

На сегодняшний день известны различные методы определения кофеина в напитках: фотометрический, спектрофотометрический, йодометрический, масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), капиллярный электрофорез (КЭ) [8].

Регламентированными являются:

1. Метод ВЭЖХ – ГОСТ 30059–93

Образцы напитков дегазируют по ГОСТ 6687.2 при температуре не более 25 °С и фильтруют через бумажный фильтр.

Условия анализа:

Колонка с фазой С-18, 5-6 мкм, 0,15 x 4,6 мм.

Подвижная фаза: 15% ацетонитрила, 85% 0,0125 М раствора KH_2PO_4 , доведенного фосфорной кислотой до pH 3,2.

Скорость потока: линейный градиент от 1,2 см³/мин до 1,7 см³/мин за 8 мин.

Температура термостата - 35 °С.

Давление на колонке при скорости потока - 1,2 см³/мин - 120 кг/см² (давление будет возрастать по мере эксплуатации колонки). Обнаружение по поглощению в УФ-области спектра при длине волны 210 нм 0,02 ед. адсорбции на всю шкалу.

Вводимый объем образца - 10,0 мм³ [9].

2. Метод КЭ - ГОСТ Р 53193-2008.

Основан на разделении и количественном определении массовой концентрации анализируемых компонентов методом капиллярного электрофореза в варианте мицеллярной электрокинетической

хроматографии. Детектирование проводят по собственному поглощению компонентов при длине волны 254 нм [10].

Следует отметить, что для классического метода ВЭЖХ требуется достаточно большой расход дорогостоящих элюентов и растворителей, что не только усложняет процесс, но и существенно удорожает анализ.

Группа компаний «ЛЮМЭКС», которая производит приборы капиллярного электрофореза «Капель» с фотометрическим детектором, разработала под свои приборы метод определения кофеина, аскорбиновой кислоты, консервантов и подсластителей методом КЭ и оформила как национальный стандарт ГОСТ Р. Этот метод заявлен сразу для разных видов напитков с определением широкого ассортимента вводимых компонентов и претендует на универсальность.

Для выполнения выпускной квалификационной работы был выбран метод капиллярного электрофореза на системе «Капель – 105М».

Капиллярный электрофорез – интенсивно развивающийся метод разделения сложных смесей, позволяющий анализировать ионные и нейтральные компоненты различной природы с высокой экспрессностью и уникальной эффективностью.

Метод капиллярного электрофореза обладает рядом преимуществ по сравнению с другими методами разделения:

- в кварцевом капилляре достигается высокая эффективность разделения компонентов смесей – сотни тысяч теоретических тарелок;
- благодаря многообразию вариантов метода КЭ разделяются ионные, нейтральные, гидрофильные, гидрофобные, хиральные компоненты, от наночастиц до макромолекул;
- быстрота проведения анализа;
- крайне низкий расход реактивов и растворителей (микролитры);
- дозируется минимальный объем анализируемого образца;

- для большинства объектов используется простая подготовка пробы – в основном лишь фильтрование, дегазирование и разбавление;
- отсутствие дорогостоящих колонок с сорбентами и проблем с их старением и заменой;
- низкая стоимость единичного анализа [11].

1.3 Капиллярный электрофорез. История развития

Электрофорез — это электрокинетическое явление, при котором осуществляется перемещение частиц в жидкой или газообразной среде под действием внешнего электрического поля.

Принцип электрофореза стал известен с начала XIX века.

В 1937 году в Швеции Арне В.К. Тезелиус предложил метод разделения смеси белков под действием напряжения, который связан с различной подвижностью и зарядом отдельных белков. Позднее за работы по электрофорезу и адсорбции Тезелиус был удостоен Нобелевской премии [12].

Капиллярный электрофорез как инструментальный метод анализа берёт начало с 80-х годов XX века в работах Йоргенсона и Лукаса. Быстрое развитие метода стало возможно из-за уменьшения диаметра разделительного капилляра до 25-100 мкм и детектирования в потоке жидкости в ближней УФ-области.

Стало возможным разделение белков и дансил-аминокислот при помощи кварцевого капилляра диаметром 50-100 мкм. Разделение биомолекул резко повысило интерес к данному методу анализа во второй половине 80-х годов XX века.

В 1984 году произошло открытие метода мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ), который предусматривал разделение нейтральных молекул, с помощью добавления додецилсульфата

натрия в концентрации, превышающей критическую концентрацию мицеллообразования.

В 1985 году Гасманом осуществлено разделение хиральных компонентов методом КЭ.

В 1991 году Вартаи предложил вариант микроэмульсионной электрокинетической хроматографии (МЭЭКХ), в котором вещества разделялись по гидрофобности и электрофоретической подвижности

В дальнейшем метод капиллярного электрофореза стал альтернативой и дополнением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

На сегодняшний день известно более десяти отечественных и зарубежных фирм, занимающихся разработкой и выпуском аппаратного обеспечения на основе метода капиллярного электрофореза [13,14].

1.4 Основы метода

Капиллярный электрофорез (КЭ) – физический метод анализа, который базируется на движении внутри кварцевого капилляра заряженных частиц в растворе электролита под действием электрического поля.

Микрообъем анализируемого раствора вводят в капилляр, предварительно заполненный подходящим буфером – электролитом. Затем компоненты пробы разделяются под действием приложенного высокого напряжения (до 30 кВ), двигаясь по капилляру с разной скоростью, которая зависит от заряда и величины ионного радиуса. Соответственно зона детектирования компонентов пробы достигается в разное время. Последовательность пиков называется электрофореграммой. Качественная характеристика вещества – время миграции, количественная характеристика – высота или площадь пика, которая пропорциональна концентрации вещества [15].

Принцип электрофореза строго подчиняется закону Ома. Разделение достигается только при действии постоянного напряжения и в присутствии буфера, который обеспечивает электролитическую проводимость.

КЭ имеет весомое преимущество перед всеми вариантами колоночной хроматографии: при анализе нет необходимости ждать пока последний пик пройдёт расстояние до конца капилляра, так как после анализа капилляр промывается и вновь наполняется буфером [12].

Процессы, происходящие в капилляре, заполненном электролитом и помещённом в электрическое поле:

1. Силоксановые группы, находящиеся на поверхности капилляра, под действием водных растворов гидролизуются, с образованием силанольных групп, а затем гидратируются (рис. 1.2.).

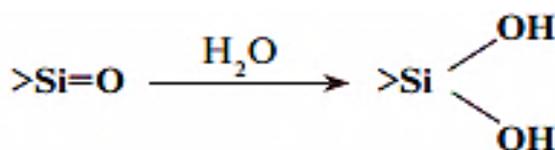


Рис. 1.2. Гидратация силанольных групп

2. Скорость и степень гидролиза зависят от температуры и pH водных растворов. При pH больше 2,5 поверхность кварца имеет отрицательный заряд; при pH около 2 и меньше силанольные группы практически не диссоциируют – поверхность кварца нейтральна.

3. На границе раздела кварц/водный раствор электролита образуется двойной электрический слой (рис. 1.3.) [16].

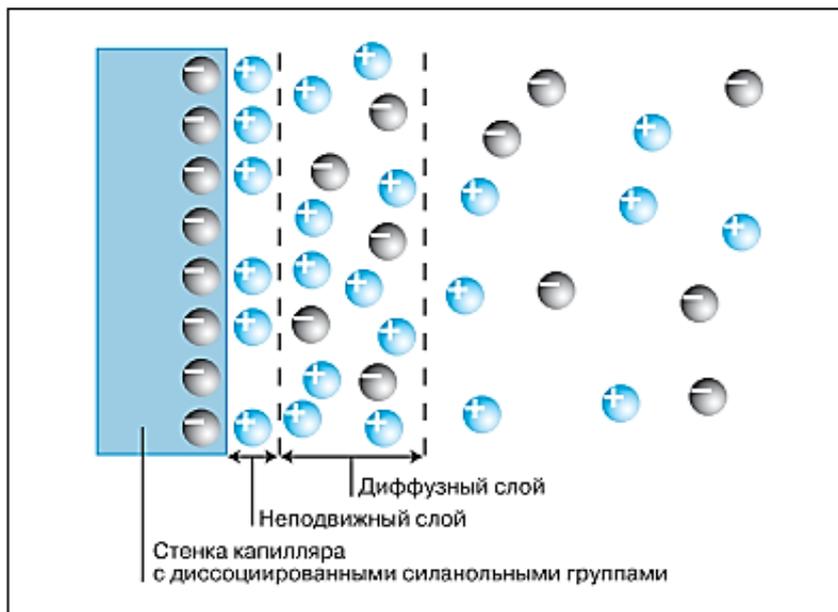


Рис. 1.3. Строение двойного электрического слоя (ДЭС) [18]

Первая обкладка – неподвижные силанольные группы, заряженные отрицательно. Вторая обкладка – катионы из раствора, заряженные положительно. Диэлектрик – молекулы воды, гидратирующие силанольные группы и катионы.

Положительная часть ДЭС делится на: неподвижную (у поверхности кварца) и диффузную (удалена от поверхности). В неподвижной части положительных зарядов меньше, чем отрицательных зарядов на поверхности кварца из-за увеличения размеров катионов вследствие гидратации.

Таким образом, в диффузной части создаётся избыточная концентрация катионов. Между этими двумя слоями проходит граница скольжения — при действии электрического поля неподвижная часть остается на месте, а диффузная часть начинает мигрировать к катоду, увлекая за собой в силу межмолекулярного сцепления всю массу жидкости в капилляре – электроосмотический поток (ЭОП).

Скорость ЭОП зависит от pH: в сильнокислой среде ЭОП отсутствует, в слабокислой – скорость очень мала, в нейтральной и щелочной среде – скорость максимальна [17].

Существуют различные варианты метода КЭ:

- капиллярный зонный электрофорез (КЗЭ);
- мицеллярная электрокинетическая хроматография (МЭКХ);
- микроэмульсионная электрокинетическая хроматография (МЭЭКХ);
- капиллярный гель-электрофорез (КГЭ);
- капиллярное электрофокусирование;
- капиллярный изотахофорез (ИТФ);
- хиральный капиллярный электрофорез;
- неводный капиллярный электрофорез;
- капиллярный аффинный электрофорез (КАЭ);
- капиллярная электрохроматография (КЭХ) [14].

Основными являются:

1. *Капиллярный зонный электрофорез (КЗЭ)* – наиболее распространённый вариант КЭ, который применяется для разделения мелких, водорастворимых молекул. КЗЭ применяют в анализе аминокислот, пептидов, ионов, энантиомеров и т.д. Разделение компонентов пробы основано на различиях в подвижности заряженных молекул или ионов. Метод используют только для ионогенных компонентов. Достоинство КЗЭ – высокая эффективность, недостаток – низкая селективность, которая может быть повышена за счёт изменения рН буферного раствора, введения в буферный раствор различных добавок.

- Катионы перемещаются быстрее всего, так как электрофорез и ЭОП совпадают по направлению.
- Нейтральные частицы не разделяются, они движутся только под действием ЭОП.
- Малые анионы мигрируют против ЭОП в направлении анода, так как их электрофоретическая подвижность выше, чем ЭОП.

– Большие анионы медленно мигрируют к катоду, так как их электрофоретическая подвижность ниже, чем ЭОП [18].

2. *Мицеллярная электрокинетическая хроматография (МЭХК)* – метод, объединяющий электрофорез и хроматографию. Метод предусматривает разделение нейтральных молекул и заряженных частиц. Разделение нейтральных молекул становится возможным при добавлении к буферному раствору поверхностно активных веществ (ПАВ) с концентрацией выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ). Образующиеся мицеллы несут заряд и поэтому мигрируют. Анионные ПАВ движутся к аноду, т.е. против ЭОП. Во время миграции мицеллы могут реагировать с компонентами раствора за счёт гидрофобных и электростатических взаимодействий. Если вещество не реагирует с мицеллой, то оно движется с ЭОП

Для улучшения условий разделения используют органические модификаторы (метанол, ацетонитрил) [12].

Система капиллярного электрофореза должна включать следующие компоненты:

1. Кварцевый капилляр;
2. Источник высокого напряжения;
3. Устройство ввода пробы;
4. Детектор;
5. Система сбора, обработки и вывода информации.

На рисунке приведено схематическое устройство системы капиллярного электрофореза [18].

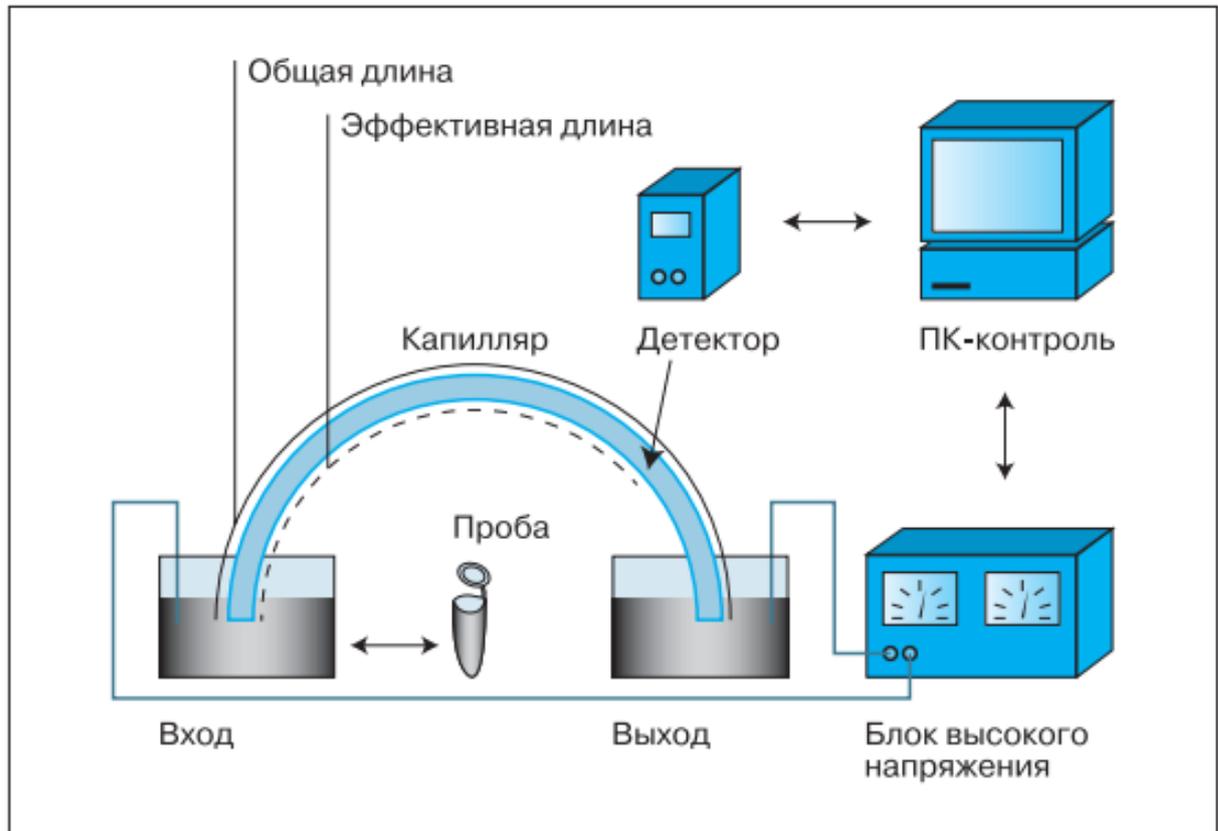


Рис. 1.4. Устройство системы КЭ [18]

1. Кварцевый капилляр: обычно используют капилляры из высокочистого плавленого кварца, прозрачного в УФ-области спектра, с внешним полимерным защитным покрытием. В зоне детектирования полиимидный слой удаляют. Внутренний диаметр капилляра может быть различным от 20 до 100 мкм. Длина капилляра 20-100 см. Общая длина капилляра $L_{\text{общ}}$ – полная длина; эффективная длина капилляра $L_{\text{эфф}}$ – длина от входного конца капилляра до зоны детектирования.

2. Источник высокого напряжения: диапазон от -25 до +25 кВ. Допустимая сила тока в капилляре до 200 мкА.

3. Устройство ввода пробы может осуществляться тремя способами: гидродинамический, электрокинетический; гидростатический.

4. Детектор. Детектирование в КЭ может осуществляться разными способами:

- в капиллярной части, в режиме реального времени (on-capillary);

- на выходе из капилляра (end-capillary);
- вне системы КЭ (off-capillary).

Основные типы детекторов в КЭ:

- фотометрический в УФ-видимой области спектра;
- флуориметрический;
- масс-спектрометрический;
- кондуктометрический;
- амперометрический;
- радиометрический;
- рефрактометрический.

5. Система сбора и обработки данных. Для фиксирования электрофоретических данных используют:

- самописец;
- принтер;
- компьютер [19].

Метод КЭ характеризуется высокой эффективностью, которая выражается числом теоретических тарелок и определяется по формуле 1.1.

$$N = 5,54 * \left(\frac{t_m}{W_{\frac{1}{2}}} \right)^2, \quad (1.1)$$

где N – эффективность;

t_m – время миграции аналита;

$W_{\frac{1}{2}}$ – ширина пика на половине высоты.

На эффективность разделения влияют следующие факторы:

- величина зоны вводимой пробы, определяемая длительностью ввода;
- температурный градиент (разница в температуре между серединой и стенками капилляра);
- адсорбция на стенках капилляра;

- различная электропроводность у пробы и раствора электролита;
- наличие гидродинамического потока.

Параметр разрешения в КЭ определяют так же, как и в ВЭЖХ согласно формуле 1.2.

$$R_s = \frac{2 \times (t_1 - t_2)}{W_1 + W_2}, \quad (1.2)$$

где R_s – разрешение;

t_1 и t_2 – времена миграции первого и второго компонента, мин.;

W_1 и W_2 – ширина первого и второго пика, мин.

Разрешение в КЭ управляет эффективностью, а не селективностью – важное отличие КЭ от ВЭЖХ.

Через формулу 1.3 можно выразить разрешение через эффективность (см. формулу 1.1).

$$R_s = \frac{1}{4} \times \sqrt{N} \times \left(\frac{\Delta\mu}{\bar{\mu}} \right), \quad (1.3)$$

где $\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2$ – изменение электрофоретической подвижности первого компонента и второго;

$$\bar{\mu} = \frac{\mu_1 + \mu_2}{2} \quad \text{– среднее арифметическое электрофоретических}$$

подвижностей первого компонента и второго.

В варианте капиллярного зонного электрофореза фактор селективности определяют по формуле 1.4.

$$a = \frac{\mu_1}{\mu_2}, \quad (1.4)$$

где a – фактор селективности;

μ_1 и μ_2 – электрофоретические подвижности первого и второго компонентов.

В варианте мицеллярной электрокинетической хроматографии селективность определяется по формуле 1.5.

$$a = \frac{k_2'}{k_1'}, \quad (1.5)$$

где a – фактор селективности;

k'_1 и k'_2 - факторы ёмкости первого и второго компонентов.

В свою очередь фактор ёмкости k' можно найти из формулы 1.6.

$$k' = \frac{t_a - t_0}{t_0 \times \left(1 - \frac{t_a}{t_m}\right)}, \quad (1.6)$$

где t_a – время удерживания анализируемого вещества;

t_0 – время удерживания компонента, не удерживаемого мицеллой;

t_m – время удерживания компонента, полностью удерживаемого мицеллой.

Для нахождения t_0 и t_m в анализируемую пробу вводят марке ЭОП (ацетон) и метку мицелл (судан 3 или судан 4), соответственно[20].

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Материальное обеспечение

Средства измерений

1. Система капиллярного электрофореза «Капель» с положительной полярностью источника высокого напряжения (внутренний диаметр капилляра 75 мкм, полная длина капилляра 60 см, эффективная длина 50 см), оснащенная специализированным программным обеспечением на основе персонального компьютера. ТУ 4215-023-20506233-2006;
2. Весы лабораторные специального или высокого класса точности с ценой делений (дискретностью отсчета) не более 0,1 мг, наибольшим пределом взвешивания не более 210 г. ГОСТ 24104-2001;
3. Колбы мерные 2-1000-2, 2-50-2, 2-25-2. ГОСТ 1770-74;
4. Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 5,10 см³. ГОСТ 29227-91;
5. Дозаторы пипеточные переменного объема 10 - 100 мм³, 100 - 1000 мм³ и 1000 - 5000 мм³ с пределом допускаемой погрешности измерения не более ± 2 %. ТУ 9452-001-33189998-95;
6. Цилиндры мерные лабораторные стеклянные с пробкой вместимостью 50 см³. ГОСТ 1770-74.

Реактивы

1. Вода дистиллированная. ГОСТ 6709-72;
2. Натрий тетраборнокислый, стандарт-титр, молярная концентрация 0,05 моль/дм³ (молярная концентрация эквивалента 0,1 моль/дм³) ТУ2642-001-07500602-97 или натрий тетраборнокислый десятиводный. ГОСТ 4199-76 х.ч.;
3. Додецилсульфат натрия, ч.д.а. или х.ч. ТУ 6-09-64-75;

4. Гидроксид натрия, х.ч. ГОСТ 4328-77;
5. Соляная кислота, х.ч. ГОСТ 3118-78;
6. Кофеин фармакопейный или имп., производства фирмы «Fluka».

Вспомогательные устройства

1. Стаканы химические вместимостью 200 см³. ГОСТ 25336-82;
2. Колбы плоскодонные вместимостью 100 см³. ГОСТ 25336-82;
3. Пробирки одноразовые (типа Эппендорфа) вместимостью 1,5 см³.
ТУ 62-2-300-80;
4. Центрифуга лабораторная с частотой вращения не менее 83 Гц (5000 оборотов в минуту), например ОПН-8 с ротором угловым РУ 180Л. ТУ 5-375-4261-76;
5. Холодильник бытовой;
6. Бумага фильтровальная лабораторная ГОСТ 12026-76;
7. Воронки лабораторные ГОСТ 25336-82;
8. Шприц медицинский одноразовый типа «Луер» вместимостью 10, 20 см³. ГОСТ 24861-91;
9. Фильтры целлюлозно-ацетатные, размер пор 0,2 мкм, диаметр 25 мм. ТУ6-55-221-879-88;
10. Оправа для фильтра производства фирмы «SARTORIUSSTEDIM», кат. номер 16517.

2.2 Методика эксперимента

Приготовление растворов

1. *Раствор гидроксида натрия для промывки капилляра.*

В стакан из термостойкого стекла помещают 2 г гидроксида натрия и растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Срок хранения в сосуде из

полиэтилена – 6 месяцев. Молярная концентрация приготовленного раствора приблизительно равна $0,5$ моль/дм³.

2. *Раствор соляной кислоты для промывки капилляра.*

В стакан из термостойкого стекла помещают 100 см³ дистиллированной воды, затем приливают 8 см³ соляной кислоты и перемешивают. Срок хранения не ограничен. Молярная концентрация приготовленного раствора приблизительно равна 1 моль/дм³.

3. *Запасный раствор натрия тетраборнокислого, молярная концентрация $0,05$ моль/дм³ (молярная концентрация эквивалента $0,1$ моль/дм³).*

Раствор готовят из стандарт-титра по прилагаемой к нему инструкции.

Срок хранения раствора в плотно закрытом полиэтиленовом сосуде в условиях, исключающих поглощение углекислого газа - 6 месяцев. При отсутствии стандарт-титра раствор можно приготовить из натрия тетраборнокислого десятиводного кристаллогидрата, растворив в мерной колбе вместимостью 1 дм³ навеску массой $19,07$ г в дистиллированной воде.

4. *Раствор додецилсульфата натрия, молярная концентрация $0,2$ моль/дм³.*

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают $1,44$ г додецилсульфата натрия, добавляют $10-15$ см³ дистиллированной воды, тщательно перемешивают, выдерживают на водяной бане при температуре 40°C до полного растворения и после охлаждения доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре - 3 месяца.

5. *Рабочий буферный раствор (ведущий электролит).*

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 10 см³ раствора натрия тетраборнокислого по п.3, 5 см³ раствора додецил-сульфата натрия по п.4 и затем доводят до метки дистиллированной водой. Тщательно перемешивают и фильтруют через целлюлозно-ацетатный фильтр (первую

порцию 0,5-1,0 см³ отбрасывают) в сухой полимерный сосуд с завинчивающейся крышкой.

Ведущий электролит содержит 20 ммоль/дм³ натрия тетраборнокислого, 40 ммоль/дм³ додецилсульфата натрия.

Срок хранения раствора при комнатной температуре - 1 месяц.

Приготовление градуировочных и контрольных растворов

Исходными компонентами для приготовления градуировочных растворов служат сухие чистые вещества с содержанием основного вещества не менее 98 %. Действительное значение массовой концентрации *i*-го компонента в запасном растворе (C_i , мг/дм³) вычисляют по формуле 2.1.

$$C_i = \frac{m_i}{V}, \quad (2.1)$$

где m – масса навески;

V – объём приготовленного раствора, дм³.

Запасный раствор кофеина, массовая концентрация 1000 мг/дм³

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают навеску кофеина массой (25 ± 2) мг, растворяют в дистиллированной воде и затем доводят до метки дистиллированной водой. Действительное значение массовой концентрации раствора вычисляют по формуле 2.1.

Срок хранения раствора в холодильнике при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ - не более 3 месяцев.

Приготовление градуировочных смесей

Приготовили градуировочные растворы кофеина с массовыми концентрациями приведёнными в таблице 2.1.

Действительные значения вычисляют по формуле 2.2.

$$C_{ij} = \frac{C_{ik} \cdot V_k}{V_j}, \quad (2.2)$$

где C_{ij} - массовая концентрация первого компонента в приготовленной смеси, мг/дм³;

C_{ik} - массовая концентрация i -го компонента в исходной смеси, использованной для приготовления данной смеси, мг/дм³;

V_k - объем исходной смеси, использованный для приготовления данной смеси, см³;

V_j - объем приготовленной смеси, см³ [10].

Таблица 2.1.

Номинальные значения массовых концентраций компонентов

Компонент	Массовая концентрация компонента, мг/дм ³		
	Смесь №1	Смесь №2	Смесь №3
	Кофеин	200	20

Градуировочный график кофеина показан на рисунке 2.1.

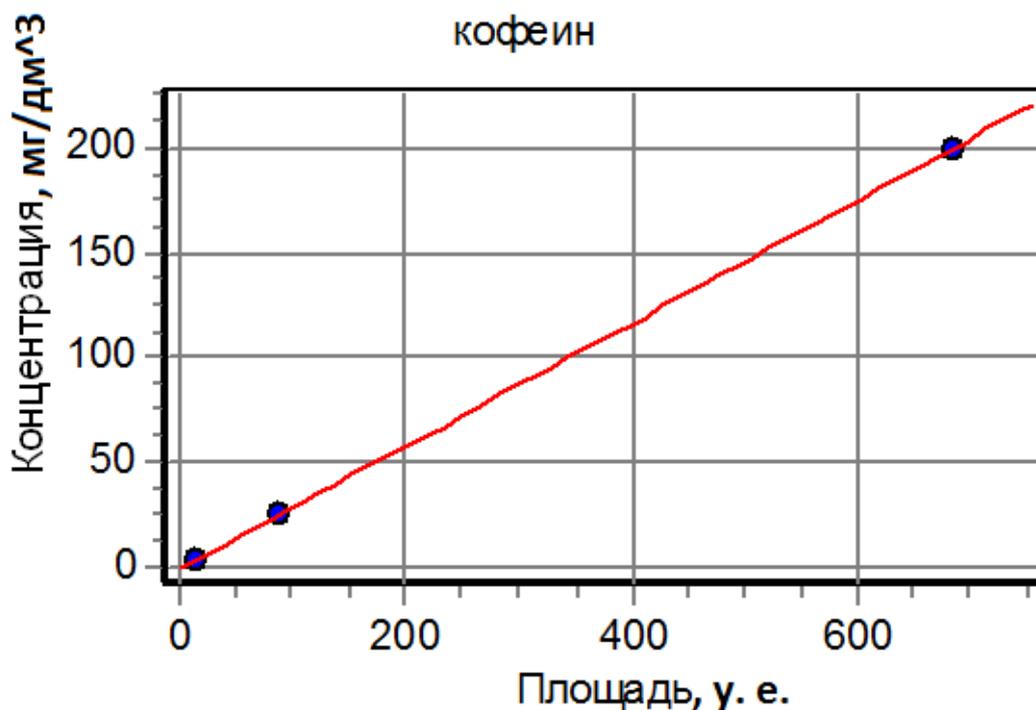


Рис. 2.1. Градуировочный график для определения кофеина
Данные градуировочного графика приведены в таблице 2.2.

Таблица 2.2.

Данные градуировки кофеина

№	Время выхода пика, мин	Высота пика, mAU	Площадь, mAU*мин	Концентрация, мг/дм ³	Отклонение, %
1	5.253	12.500	684.7	200.00	0.0
2	5.303	1.596	87.91	25.262	0.1
3	5.260	0.657	14.03	4.0953	0.0

Метрологические характеристики градуировочного графика кофеина из протокола программного обеспечения группы компаний «ЛЮМЕКС» «Эльфوران»:

функция отклика: площадь;

корреляция: 0,9996.

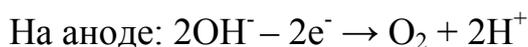
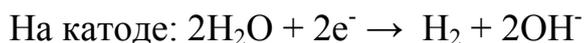
Пробоподготовка образцов

1. Дегазирование при помощи ультразвуковой бани Град 13-35, частота 30 кГц, продолжительность 6 минут;
2. Фильтрование образцов через целлюлозно-ацетатные фильтры ($d=0,2$ мкм) в пробирки типа Эппендорф;
3. Центрифугирование в течение 5 минут при 5000 об/мин.

Условия анализа

- Буфер: боратный с добавками додецилсульфата натрия рН=9,2;
- Капилляр: $L_{эфф}/L_{общ} = 50/60$ см, ID= 75 мкм;
- Ввод пробы: 150 мбар*с;
- Напряжение: +25 кВ;
- Температура: +20° С;
- Детектирование: 254 нм.

Боратный буфер обладает всеми необходимыми характеристиками для проведения анализа: достаточная буферная емкость в выбранном диапазоне рН, малое поглощение на длине волны детектирования, низкая подвижность ведущего иона, может использоваться в широком диапазоне концентраций без существенного увеличения тока, что позволяет, в свою очередь, применять максимально высокие напряжения в ходе анализа.



Образующиеся и гидроксильные и водородные ионы нейтрализуются буферными компонентами ведущего электролита: в прикатодном слое борной кислотой, в прианодном — борат-ионом.

Разделение кофеина возможно благодаря введению анионного ПАВ (АПАВ) – додецилсульфата натрия в концентрации, превышающей критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ), для ДДСН в водном растворе составляет 8 мМ. В растворе электролита находятся мицеллы (гидрофобный «хвост» и гидрофильная отрицательно заряженная «голова») и небольшая доля мономерной формы ПАВ. Каждая мицелла окружена собственным ДЭС, внешнюю диффузную часть которого формируют катионы натрия. Ни мицеллярная, ни мономерная форма АПАВ не взаимодействуют со стенкой кварцевого капилляра, но при подаче на капилляр высокого напряжения обе формы мигрируют к аноду, в то время как ЭОП направлен к катоду. Если в капилляр на анодной стороне ввести пробу, содержащую нейтральные и заряженные компоненты, то ЭОП будет переносить их к катоду, а навстречу будет двигаться поток отрицательно заряженных мицелл АПАВ. Нейтральные компоненты пробы могут распределяться между фазой раствора и мицеллярной фазой. В результате на выходе капилляра регистрируется электрофореграмма нейтральных компонентов (кофеина), а также медленно мигрирующих анионов пробы [19].

Для подтверждения полученных результатов концентраций кофеина в образцах энергетических напитков были использованы методы разбавления и добавок [21, 22].

Разбавления исходных образцов проводили последовательно: в 2, 4, 8 и 16 раз.

В методе стандартных добавок к 1 мл исследуемого энергетика приливали 0,5 мл кофеина с концентрацией 100 мг/дм³. Затем к 1 мл энергетика приливали 0,5 мл кофеина с концентрацией 1000 мг/дм³.

Анализ проводили согласно методике в трёх повторностях

Исходную концентрацию кофеина в образце энергетика определяли по формуле 3.1.

$$C_{xi} = \frac{C_{ст} * V_{ст}}{V_{ст} + V_x} * \frac{S_x}{S_{x+ст} - S_x}, \quad (2.3)$$

где C_x – исходная концентрация кофеина в образце, определённая ранее, мг/дм³;

$C_{ст}$ – концентрация стандартного раствора кофеина, мг/дм³;

$V_{ст}$ – объём добавленного стандартного раствора кофеина, мл;

V_x – объём пробы энергетика, взятый для анализа, мл;

S_x – площадь под пиком на электрофореграмме образца энергетического напитка, мAU*мин.;

$S_{x+ст}$ – площадь под пиком на ЭФГ после введения добавки, мAU*мин.

Далее определяли среднюю концентрацию кофеина из трёх полученных результатов:

$$C_{cp}(\text{кофеина}) = \frac{C_{x1} + C_{x2} + C_{x3}}{3}, \text{ мг/дм}^3, \quad (2.4)$$

где C_{x1} , C_{x2} , C_{x3} – концентрации кофеина, полученные из формулы 3.1.

3 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для исследования были выбраны следующие образцы энергетических напитков, приобретённые в торговой сети г. Белгорода:

1. «Adrenaline Rash». Изготовитель: ООО «Пепси Ко Холдингс».
2. «EON гранат-имбирь». Изготовитель: ООО «ДАЛ».
3. «BURN». Изготовитель: ООО «Кока-кола Эйчбиси Евразия»
4. «Flash up energy с кофеином и таурином». Изготовитель: ООО «Балтика – Тула».
5. «Power Torg energy». Изготовитель: ООО «Фонте Аква».
6. «Drive me Ориджинал». Изготовитель: ООО «ПепсиКо Холдингс».
7. «Red Bull The Red Edition» со вкусом клюквы. Изготовитель: «РаухФрухтзафте ГмбХ энд Ко».
8. «Dracula». Изготовитель: ООО «Дикомп-Классик».
9. «Black Monster Assault». Изготовитель: «ДИС Контракт филлинг БВ Монстер Енерджи Лимитед».
10. «BULLIT». Изготовитель: «БУЛЛИТ ГМБХ».

Анализ каждого образца производили в трёх повторностях.

Электрофореграмма образца №1 «Adrenaline Rash» представлена на рисунке 3.1.

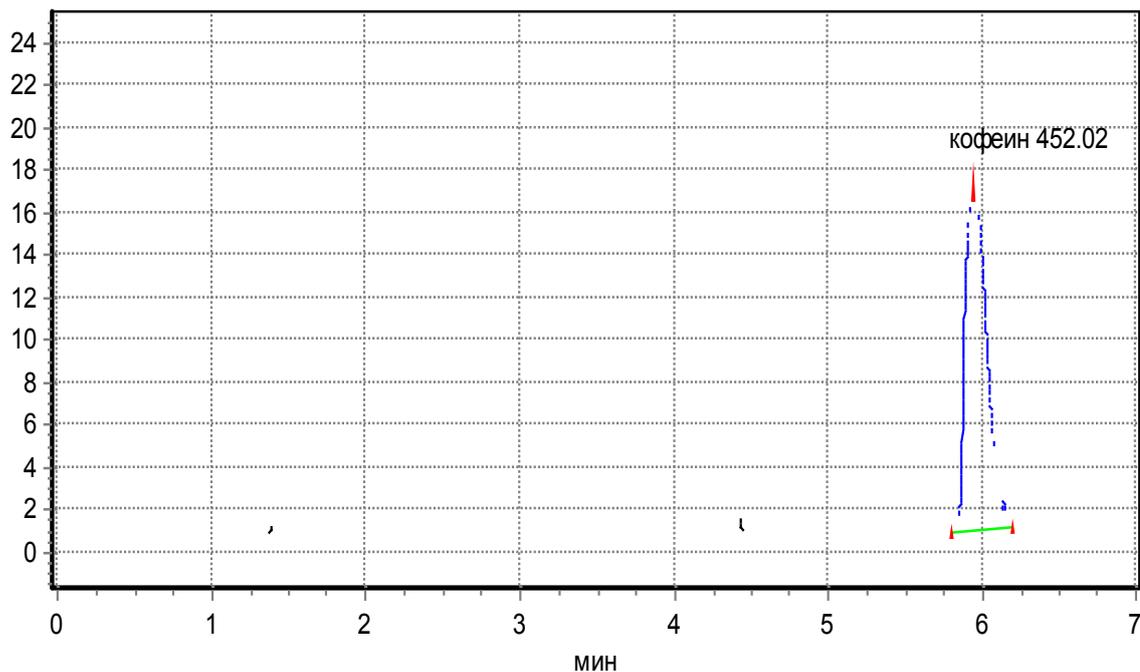


Рис. 3.1. Электрофореграмма образца «Adrenaline Rash»

$C(\text{кофеина}) = 465,06 \pm 29,90 \text{ мг/дм}^3$.

Электрофореграмма образца №2 «EON» представлена на рисунке 3.2.

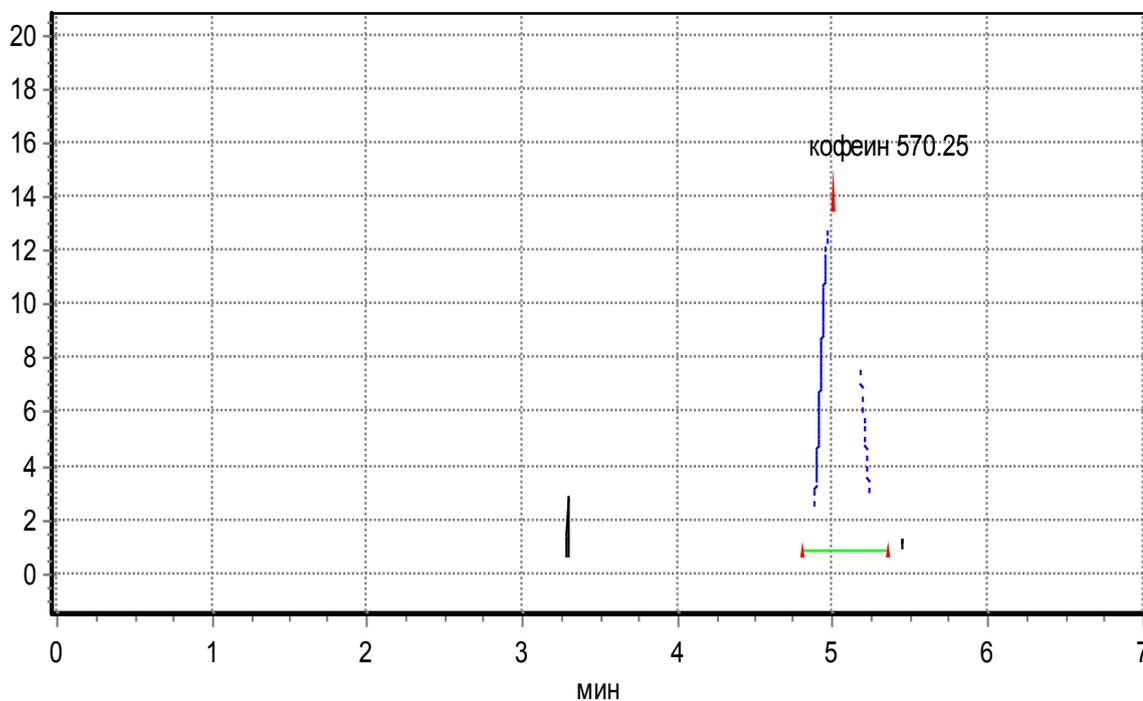


Рис. 3.2. Электрофореграмма образца «EON»

$C(\text{кофеина}) = 575,91 \pm 15,61 \text{ мг/дм}^3$.

Электрофореграмма образца №3 «BURN» представлена на рисунке 3.3.

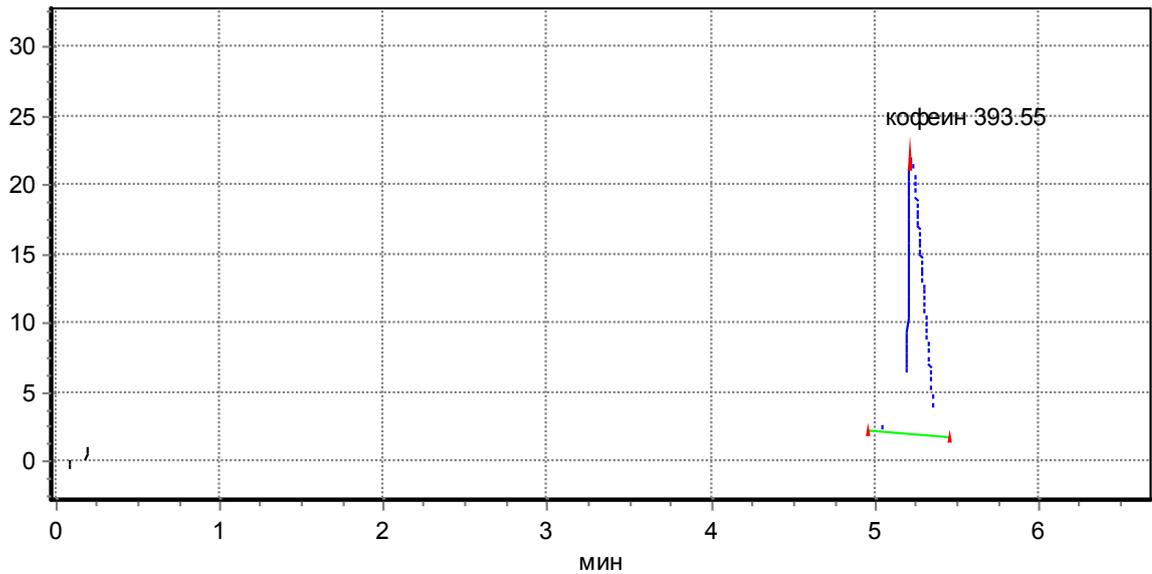


Рис. 3.3. Электрофореграмма образца «BURN»

$$C (\text{кофеина}) = 407,18 \pm 25,53 \text{ мг/дм}^3.$$

Электрофореграмма образца №4 «Flash up energy» представлена на рисунке 3.4.

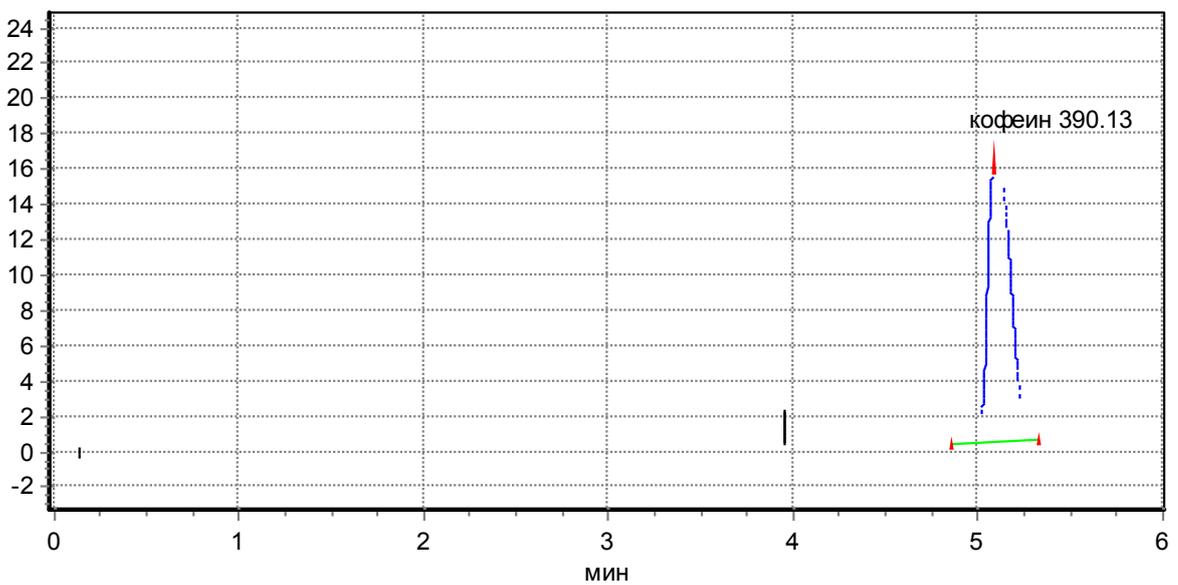


Рис. 3.4. Электрофореграмма образца «Flash up energy»

$$C (\text{кофеина}) = 385,90 \pm 23,84 \text{ мг/дм}^3.$$

Электрофореграмма образца №5 «Power Top energy» представлена на рисунке 3.5.

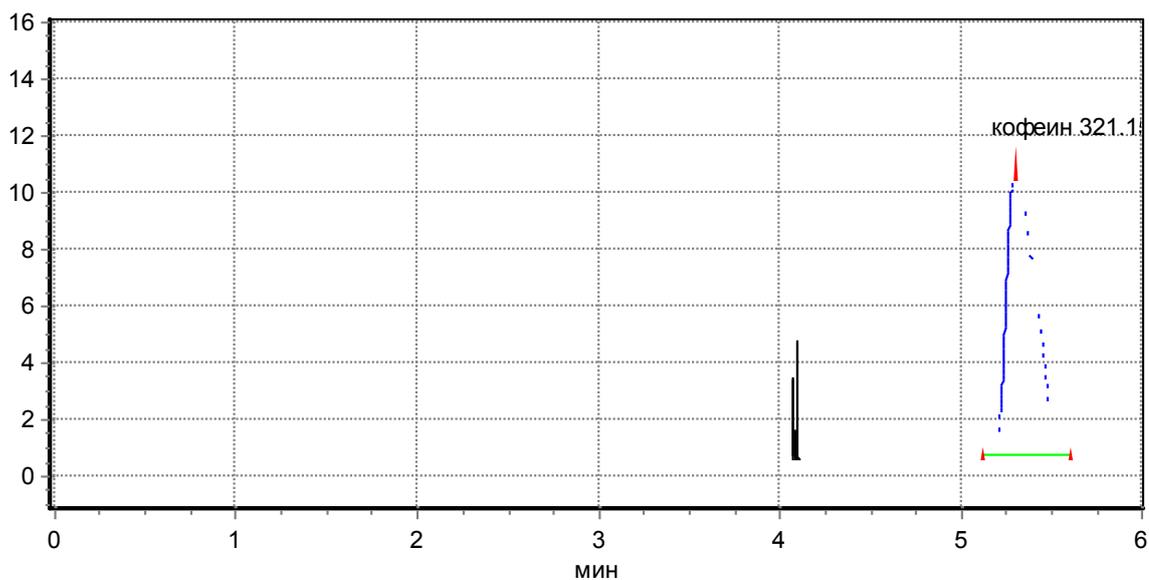


Рис. 3.5. Электрофореграмма образца «Power Torr energy»

$C(\text{кофеина}) = 326,25 \pm 13,81 \text{ мг/дм}^3$.

Электрофореграмма образца №6 «Drive me Ориджинал» представлена на рисунке 3.6.

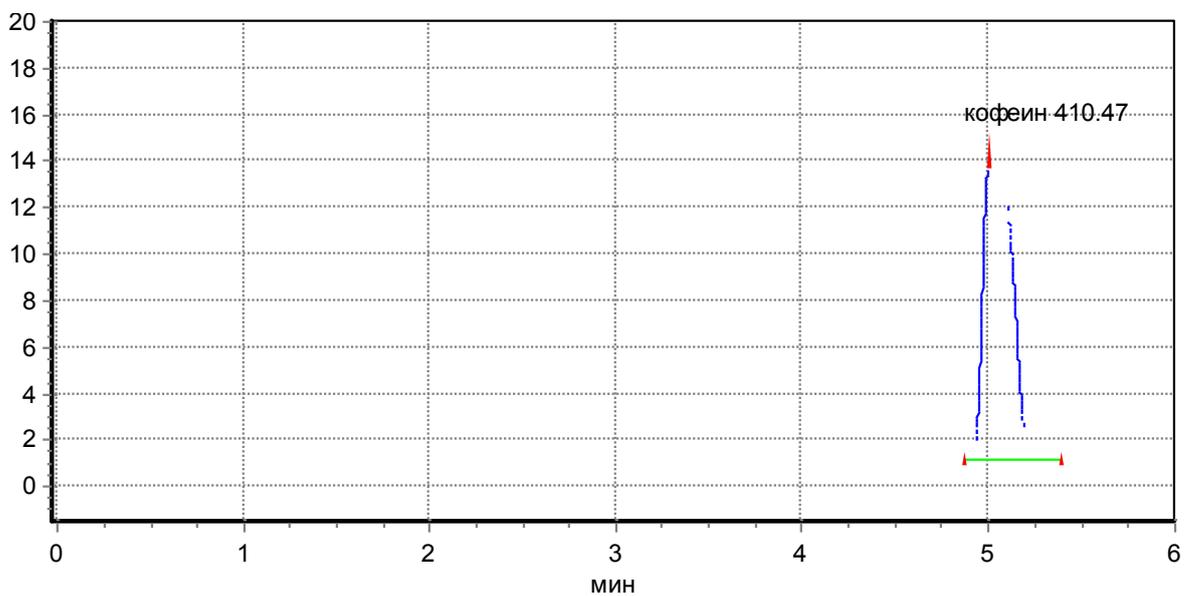


Рис. 3.6. Электрофореграмма образца «Drive me Ориджинал»

$C(\text{кофеина}) = 420,94 \pm 22,64 \text{ мг/дм}^3$.

Электрофореграмма образца №7 «Red Bull The Red Edition» представлена на рисунке 3.7.

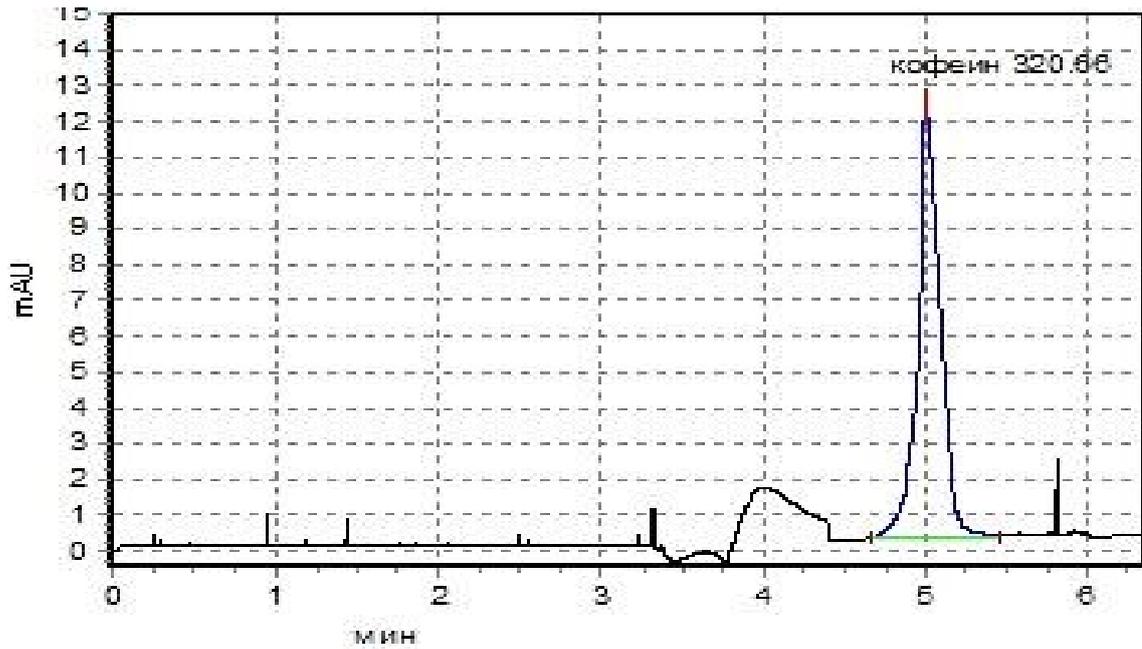


Рис. 3.7. Электрофореграмма образца «Red Bull The Red Edition»
 $C(\text{кофеина}) = 320,22 \pm 4,03 \text{ мг/дм}^3$.

Электрофореграмма образца №8 «Dracula» представлена на рисунке 3.8.

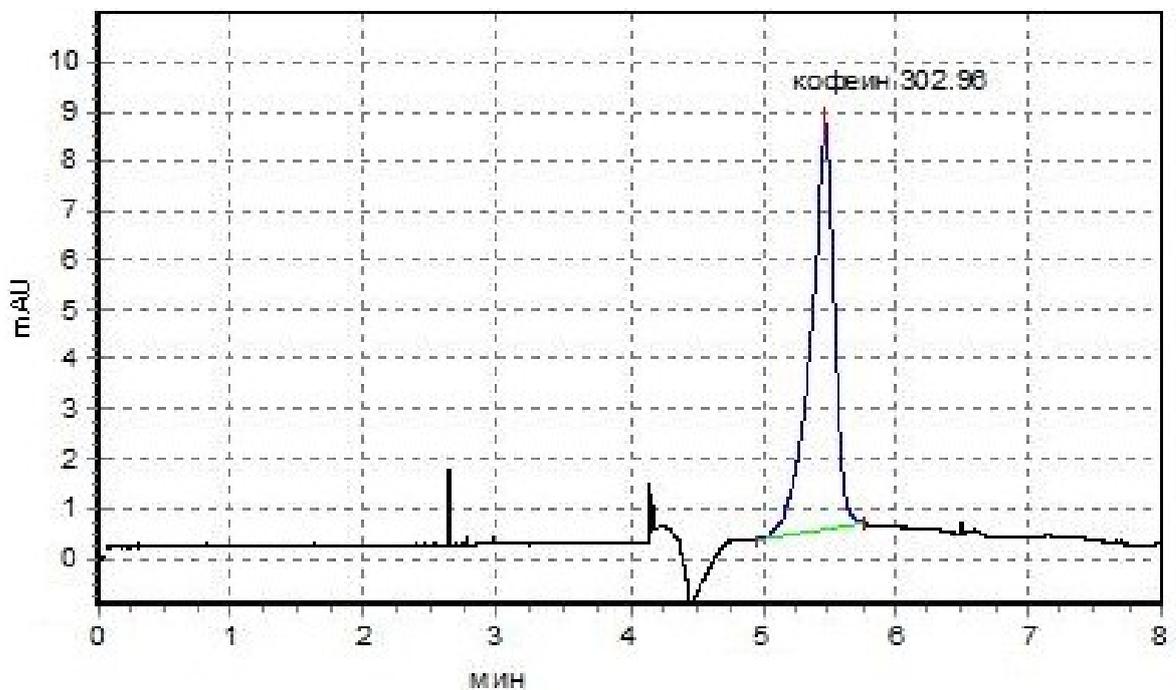


Рис. 3.8. Электрофореграмма образца «Dracula»
 $C(\text{кофеина}) = 298,90 \pm 10,51 \text{ мг/дм}^3$.

Электрофореграмма образца №9 «Black Monster Assault» представлена на рисунке 3.9.

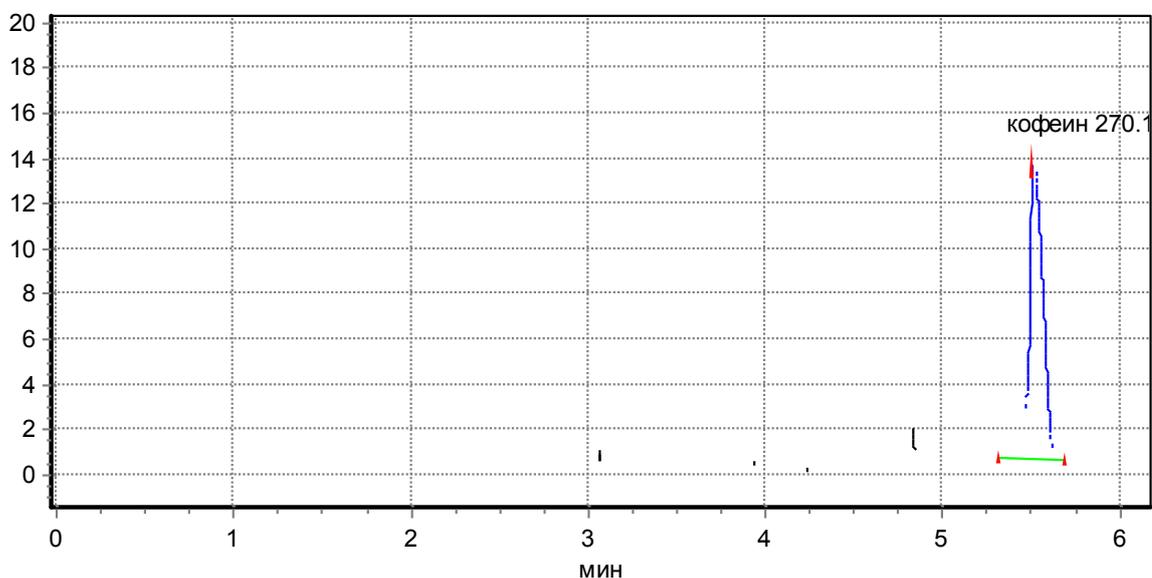


Рис. 3.9. Электрофореграмма образца «Black Monster Assault»

$$C(\text{кофеина}) = 276,58 \pm 14,18 \text{ мг/дм}^3.$$

Электрофореграмма образца №10 «BULLIT» представлена на рисунке 3.10.

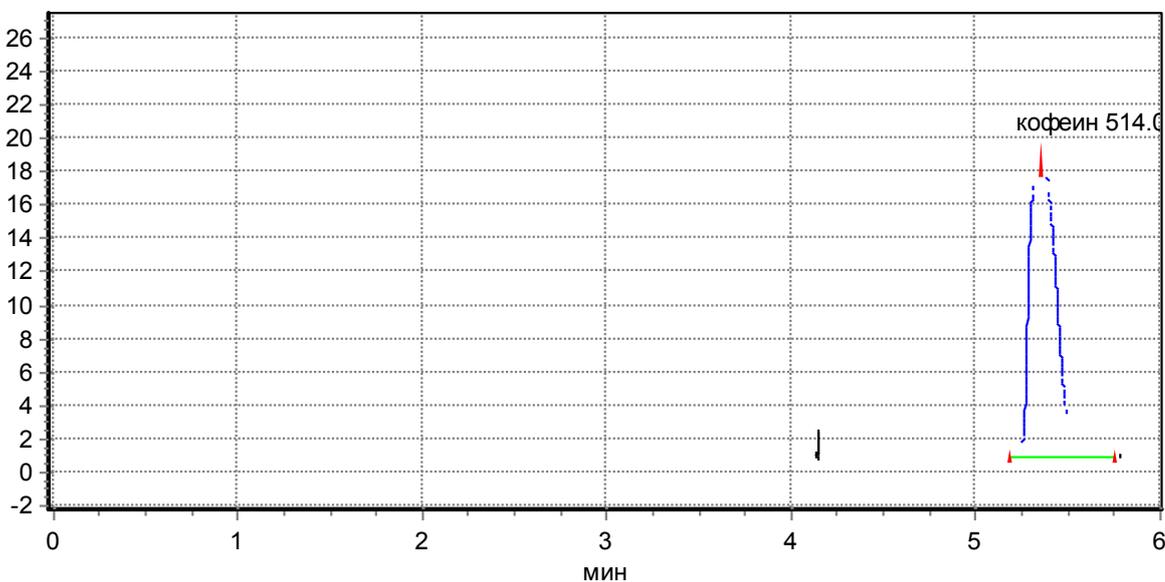


Рис. 3.10. Электрофореграмма образца «BULLIT»

$$C(\text{кофеина}) = 514,37 \pm 4,32 \text{ мг/дм}^3.$$

Результаты анализа образцов энергетических напитков приведены в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

Концентрация кофеина в образцах энергетических напитков

Образец, объём упаковки, см ³	Содержание кофеина в одной упаковке, мг	Концентрация кофеина (мг/дм ³)	Допустимая концентрация кофеина по ГОСТ, мг/дм ³ [23, 24, 25]
Adrenaline Rash (500)	232,53	465,06 ± 29,90	не менее 151; не более 400
EON (500)	278,96	575,91 ± 15,61	
BURN (250)	101,80	407,18 ± 25,53	
Flash up energy (500)	192,95	385,90 ± 23,84	
Power Torr energy (500)	163,13	326,25 ± 13,81	
Drive me Ориджинал (500)	210,47	420,94 ± 22,64	
Red Bull The Red Edition (250)	80,06	320,22 ± 4,03	
Dracula (330)	99,63	298,90 ± 10,51	
Black Monster Assault (500)	138,29	276,58 ± 14,18	
BULLIT (500)	257,19	514,37 ± 4,32	

Из таблицы 3.1. можно сделать следующие выводы:

1. Содержание кофеина в одной торговой упаковке образцов варьирует в пределах 80 – 279 мг, что, в принципе, удовлетворяет суточным нормам потребления кофеина по медицинским показаниям.

2. Однако первый пункт не учитывает следующие обстоятельства: количество потребляемых банок энергетика и их номинальный объём, а

также поступление других пуриновых алкалоидов с чаем и кофе, что в конечном итоге приводит к превышению суточной дозы потребления кофеина в три и более раз.

3. Концентрация кофеина в образцах энергетических напитков колеблется в пределах 276 – 576 мг/дм³.

4. Пять образцов удовлетворяют нормам ГОСТ: Flash up energy, Power Torr energy, Red Bull The Red Edition, Dracula, Black Monster Assault.

5. Два энергетика содержат пороговую концентрацию кофеина, согласно стандарту: BURN, Drive me Ориджинал.

6. В трёх образцах концентрация кофеина превышает допустимую: Adrenaline Rash – на 16,30%, EON – на 43,98%, BULLIT – на 28,59%.

7. Государственный стандарт не учитывает номинальный объём торговой упаковки энергетических напитков, что позволяет производителям замаскировать нарушения норм ГОСТ.

Для анализа методом разбавления выбраны следующие образцы:

1. «EON гранат-имбирь».
2. «Drive me Ориджинал».
3. «BULLIT».

Анализ каждого разбавления энергетических напитков осуществляли в трёх повторностях.

На рисунке 3.11. представлены электрофореграммы разбавлений энергетика «EON».

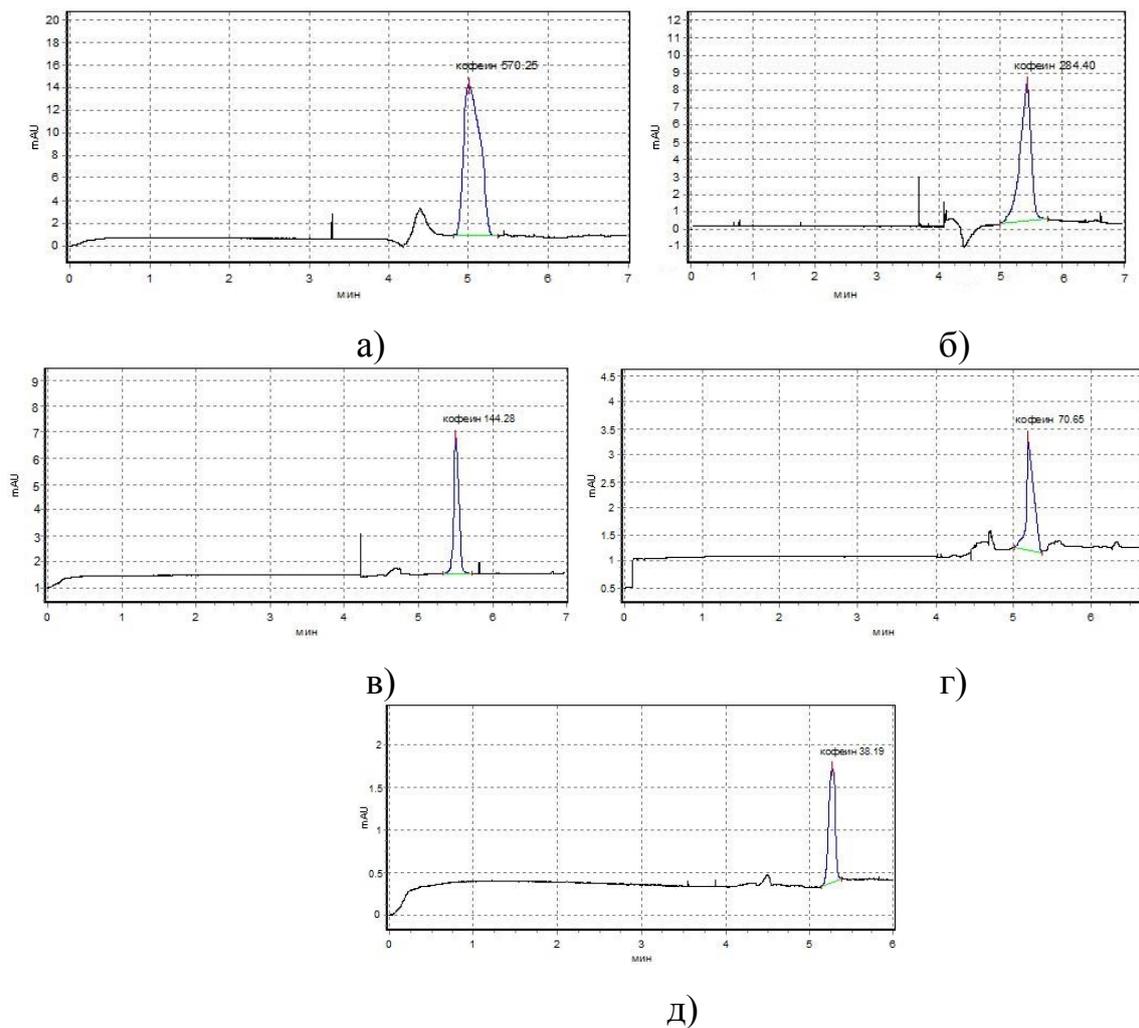


Рис. 3.11. Электрофореграммы энергетического напитка «EON»: а) без разбавления; разбавление в 2 раза (б), в 4 раза (в), в 8 раз (г) и в 16 раз (д)

В таблице приведены данные разбавлений трёх образцов энергетиков

Таблица 3.2.

Концентрации кофеина в образцах энергетиков после разбавлений

Образец	Концентрация, мг/дм ³				
	без разбавления	Разбавление в			
		2 раза	4 раза	8 раз	16 раз
EON	575,91 ± 15,61	285,96 ± 1,51	143,43 ± 2,67	71,76 ± 3,05	37,63 ± 4,90
Drive me Ориджинал	420,94 ± 22,64	212,57 ± 1,58	106,43 ± 3,01	52,95 ± 3,23	26,98 ± 3,69
BULLIT	514,37 ± 4,32	257,46 ± 3,01	128,25 ± 2,94	65,69 ± 3,78	33,07 ± 4,58

Из таблицы следует, что определённые ранее концентрации кофеина в образцах энергетических напитков являются достоверными. При последовательном разбавлении в 2, 4, 8 и 16 раз наблюдается линейность полученных результатов. Методика определения кофеина является воспроизводимой.

Также для подтверждения полученных ранее результатов концентрации кофеина в образцах энергетических напитков был использован метод стандартных добавок.

Использовали образцы энергетиков:

1. «Power Torr energy».
2. «Red Bull The Red Edition».
3. «Black Monster Assault».

Расчёт концентрации кофеина в образце «Power Torr energy»

1. Стандартная добавка 0,5 мл раствора кофеина с концентрацией 100 мг/дм³. Объём пробы энергетика 1 мл (см. формулу 3.1):

$$C_{x1} = \frac{100\text{мг/дм}^3 \cdot 0,5\text{мл}}{1\text{мл} + 0,5\text{мл}} * \frac{1110\text{y.e.}}{1225\text{y.e.} - 1110\text{y.e.}} = 321,73 \text{ мг/дм}^3;$$

$$C_{x2} = \frac{100\text{мг/дм}^3 \cdot 0,5\text{мл}}{1\text{мл} + 0,5\text{мл}} * \frac{1110\text{y.e.}}{1223\text{y.e.} - 1110\text{y.e.}} = 327,43 \text{ мг/дм}^3;$$

$$C_{x3} = \frac{100\text{мг/дм}^3 \cdot 0,5\text{мл}}{1\text{мл} + 0,5\text{мл}} * \frac{1110\text{y.e.}}{1226\text{y.e.} - 1110\text{y.e.}} = 319,00 \text{ мг/дм}^3.$$

По формуле 3.2:

$$C_{\text{cp}}(\text{кофеина}) = \frac{321,73 \text{ мг/дм}^3 + 327,43 \text{ мг/дм}^3 + 319,00 \text{ мг/дм}^3}{3} = 322,72 \text{ мг/дм}^3.$$

Аналогично производили расчёт при стандартной добавке раствора кофеина 0,5 мл с концентрацией 1000 мг/дм³ (см. формулу 3.1):

$$C_{x1} = \frac{1000\text{мг/дм}^3 \cdot 0,5\text{мл}}{1\text{мл} + 0,5\text{мл}} * \frac{1110\text{y.e.}}{2246\text{y.e.} - 1110\text{y.e.}} = 325,70 \text{ мг/дм}^3;$$

$$C_{x2} = \frac{1000\text{мг/дм}^3 \cdot 0,5\text{мл}}{1\text{мл} + 0,5\text{мл}} * \frac{1110\text{y.e.}}{2238\text{y.e.} - 1110\text{y.e.}} = 328,01 \text{ мг/дм}^3;$$

$$C_{xz} = \frac{1000 \text{ мг/дм}^3 * 0,5 \text{ мл}}{1 \text{ мл} + 0,5 \text{ мл}} * \frac{1110 \text{ у.е.}}{2241 \text{ у.е.} - 1110 \text{ у.е.}} = 327,14 \text{ мг/дм}^3.$$

По формуле 3.2:

$$C_{cp}(\text{кофеина}) = \frac{325,70 \text{ мг/дм}^3 + 328,01 \text{ мг/дм}^3 + 327,14 \text{ мг/дм}^3}{3} = 326,95 \text{ мг/дм}^3.$$

Аналогично рассчитывали концентрацию образцов «Red Bull The Red Edition» и «Black Monster Assault», данные приведены в таблице 3.3.

Таблица 3.3.

Концентрации кофеина в образцах энергетиков, вычисленные по методу стандартных добавок

Образец	Концентрация кофеина, мг/дм ³		
	из прямого анализа	из расчёта по методу стандартных добавок	
		0,5 мл 100 мг/дм ³	0,5 мл 1000 мг/дм ³
Power Torr energy	326,25 ± 13,81	322,72	326,95
Red Bull The Red Edition	320,22 ± 4,03	323,03	327,54
Black Monster Assault	276,58 ± 14,18	274,86	277,58

Из таблицы можно сделать вывод, что методика определения концентрации кофеина является воспроизводимой в образцах энергетических напитков, определённые согласно методике, являются достоверными и воспроизводимыми.

ВЫВОДЫ

В рамках исследования данной выпускной квалификационной работы полностью раскрыта тема и достигнута цель - изучено содержание кофеина в энергетических напитках разных производителей, реализуемых в торговой сети г. Белгорода.

Реализованы следующие задачи:

1. Изучена литература по теме исследования.
2. Произведён анализ образцов энергетических напитков методом капиллярного электрофореза.
3. Полученные данные сопоставлены с медицинскими нормами и стандартом ГОСТ. Исследования показали, что:
 - Содержание кофеина одной торговой упаковке не превышает норму суточного потребления кофеина по медицинским показаниям и варьирует в пределах 80 – 279 мг.
 - Концентрация кофеина в образцах энергетических напитков колеблется в пределах 276 – 576 мг/дм³.
 - Пять образцов удовлетворяют нормам ГОСТ: «Flash up energy», «Power Torr energy», «Red Bull The Red Edition», «Dracula», «Black Monster Assault».
 - Два энергетика содержат пороговую концентрацию кофеина, согласно стандарту: «BURN», «Drive me Ориджинал».
 - В трёх образцах концентрация кофеина превышает допустимую: «Adrenaline Rash» – на 16,3%, «EON» – на 43,98%, «BULLIT» – на 28,59%.
 - Государственный стандарт не учитывает номинальный объём торговой упаковки энергетических напитков, что позволяет производителям замаскировать нарушения норм ГОСТ.

4. Достоверность полученных результатов подтверждается методами разбавлений и стандартных добавок, что показывает высокую эффективность и воспроизводимость методики определения кофеина группы компаний «ЛЮМЭКС».

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства / 16-е изд, перераб., испр. и доп. М.: «Новая волн», 2012. 1216 с.
2. Де Векки Д.А., Москвин А.В., Петров М.Л. Новый справочник химика и технолога. Основные свойства неорганических, органических и элементоорганических соединений. СПб.: АНО НПО «Мир и Семья», 2002. 1280 с.
3. Беликов В.Г. Учебное пособие по фармацевтической химии. М.: «Медицина», 1979. 398 с.
4. Зайцева О.Е. Должны потребители кофеин-содержащих напитков знать фармакокинетику кофеина? // Фундаментальные исследования. 2015. № 1-5. С. 946-952.
5. Ahluwalia N., Herrick K. Caffeine intake from food and beverage sources and trends among children and adolescents in the United States: review of national quantitative studies from 1999 to 2011 // Adv Nutr. 2015. V. 6(1). P. 102–111.
6. Wierzejska R. Caffeine-common ingredient in a diet and its influence on human health // Rocznik Państw Zakł Hig. 2012. V. 63(2). P. 141–147.
7. Bailey R.L., Saldanha L.G., Gahche J.J., Dwyer J.T. Estimating caffeine intake from energy drinks and dietary supplements in the United States // Nutr Rev. 2014. V. 72. P. 9–13.
8. Хасанов В.В., Слижов Ю.Г. АНАЛИЗ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ НАПИТКОВ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА // Журнал аналитической химии. 2013. Т.68. № 4. С. 385–388.
9. ГОСТ 30059–93. Напитки безалкогольные. Методы определения аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия. Введ. 1996 –01–01. М.: «Стандартинформ», 2010. 7 с.

10. ГОСТ Р 53193-2008. Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты и ее солей, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза [Текст]. Введ. 2010–01–01. М.: «Стандартинформ», 2010. 12 с.

11. Каменцев Я. С., Комарова Н.В., Корашенников А.А. Возможности метода капиллярного электрофореза для контроля качества питьевых, поверхностных, сточных и технологических вод // ЭКВАТЭК-2002: Тез. докл. 5-го Международного конгресса - Москва, 2002. – С. 608–610.

12. Бёккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза / Перевод с немецкого В.С. Курова / Под редакцией А.А. Курановой. М.: «Техносфера», 2009. 472 с.

13. Энгельгардт Х. Руководство по капиллярному электрофорезу / Под редакцией д.х.н. А.М. Волощука. Научный совет по хроматографии. М.: «Наука», 1996. 111 с.

14. Проблемы аналитической химии Т.18: Капиллярный электрофорез / Под редакцией д.х.н. Л.А. Карцовой. М.: «Наука», 2014. 444 с.

15. Хомов Ю.А., Фомин А.Н. Капиллярный электрофорез как высокоэффективный аналитический метод (обзор литературы) [Электронный ресурс] // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 5. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=6775> (дата обращения: 06.05.2018).

16. Ламоткин С.А. Хроматография и электрофорез. Минск: «БГТУ», 2014. 289 с.

17. Каменцев Я. С., Комарова Н.В. Основы метода капиллярного электрофореза. Аппаратурное оформление в области применения // Аналитика и контроль. 2002. Т.6. №1. С. 13–18.

18. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ». СПб.: ООО «Веда», 2006. 212 с.

19. Беленький Б.Г. Высокоэффективный капиллярный электрофорез. СПб.: «Наука», 2009. 314 с.
20. Каменцев Я.Г., Ягов Г.В. Капиллярный электрофорез как аналитический метод. СПб.: ООО «Веда», 2000. 164 с.
21. Вершинин В.И., Власова И.В., Никифорова И.А. Аналитическая химия: учеб. для студ. учреждений высш. проф. образования. М.: «Академия», 2011. 448 с.
22. РМГ 76-2014 ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. Введ. 2016-01-01. М.: «Стандартинформ», 2015. 110 с.
23. ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции; Утв. Решением № 880 от 09.12.2011 Комиссии Таможенного союза, действ. с 01.07.2013.
24. ГОСТ Р 52844-2007. Напитки безалкогольные тонизирующие. Общие технические условия. Введ. 2009-01-01. М.: «Стандартинформ», 2008. 7 с.
25. СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Приложение 1». Введ. 01-09-2002. М.: «Моркнига». 2018. 448 с.