



Для полного отделения вспомогательных веществ из исходных растворов цефуроксим аксетила и цефалексина следует рекомендовать центрифугирование.

Список литературы

1. Яковлев В. П., Яковлев С. В. Антибактериальные препараты : современное состояние и перспективы // Антибиотики и химиотерапия. 2001. Т. 46, № 11. С. 19–22.
2. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. М. : Наука, 2004. 528 с.
3. Кулапина О. И., Кулапина Е. Г. Антибактериальная

терапия. Современные методы определения антибиотиков в лекарственных и биологических средах. Саратов : Саратовский источник, 2015. 91 с.

4. Кулапина Е. Г., Снесарев С. В., Кулапина О. И., Барина О. В. Некоторые проблемы обеспечения избирательности и чувствительности определения антибиотиков в лекарственных и биологических средах // Проблемы аналитической химии : в 18 т. Т. 16. Фармацевтический анализ. М. : Аргамак-Медиа, 2013. С. 326–361.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства : в 2 ч. М. : Новая волна, 2014. Ч. 1, 2. 1206 с.
6. Алексеев В. Г. Бионеорганическая химия пенициллинов и цефалоспоринов. Тверь : Изд-во Твер. гос. ун-та, 2009. 104 с.

УДК 543.54:547

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОФЕИНА И НЕКОТОРЫХ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК В ВИНАХ, ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ И ТОНИЗИРУЮЩИХ НАПИТКАХ

Е. И. Селифонова, Д. В. Салькова, Р. К. Чернова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского
E-mail: selif-ei@yandex.ru



Методом капиллярного электрофореза определено содержание кофеина и пищевых добавок: аскорбиновой (E300), сорбиновой (E200), бензойной (E210) кислот; подсластителей – сахарина натрия (E954), ацесульфата калия (E 950) в винах, энергетических напитках и чае. Дана сравнительная характеристика содержания кофеина и вышеуказанных пищевых добавок в напитках. Проведено сопоставление с соответствующими нормативами. Показано, что концентрация бензойной кислоты выше ПДК в напитках FLESH и MONETO.

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, пищевые добавки, содержание, энергетические напитки, чай, вина.

Determination of Caffeine and Some Food Additives Wines, Energy and Soft Drinks

E. I. Selifonova, D. V. Salkova, R. K. Chernova

The method of capillary electrophoresis to determine the content of caffeine and food additives: ascorbic (E300), sorbic (E200), benzoic (E210) acids; sweeteners – saccharin sodium (E954), acesulfame potassium (E 950) in wines, energy drinks and tea. The comparative characteristic of the caffeine content, and the aforementioned food additives in beverages. A comparison with the corresponding regulations. It is shown that the concentration of benzoic acid in beverages above the maximum allowable concentration in beverages FLESH and MONETO.

Keywords: capillary electrophoresis, nutritional supplements, content, energy drinks, teas, wines.

DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-1-28-35

Введение

Капиллярный электрофорез является одним из наиболее эффективных методов разделения

и определения состава многокомпонентных смесей. Метод характеризуется экспрессностью, высокой эффективностью разделения, микрообъемами анализируемого раствора, отсутствием колонки и твёрдого сорбента, проблем с его «старением» (в отличие от ВЭЖХ), а также практически не требуется применения органических растворителей [1, 2].

Кофеин и пищевые добавки с международными кодами – E300, E200, E210, E954, E950 – в дозах, превышающих нормы, влияют отрицательно на организм человека. В больших дозах кофеин приводит к упадку мозговой деятельности, истощению. Злоупотребление продуктами с высоким содержанием подсластителей нередко сопровождается нервными расстройствами, фиксируется интенсивное отмирание нервных клеток. Консерванты, обладая противомикробным, противогрибковым и противобактериальным эффектами, попадая в организм человека, способствуют подавлению иммунитета, нарушению обмена веществ, а также могут вызывать аллергические реакции. В связи с этим употребление пищевых добавок нормируется и подлежит контролю.

Для определения кофеина, консервантов и подсластителей применяют электрохимические, спектрофотометрические, хроматографические, масс-спектрометрические, капиллярно-электрофоретические методы. Наиболее часто применя-



емыми являются хроматографические методы. Так, была разработана методика количественного определения кофеина и его метаболитов: параксантина, теобромина, теофиллина в плазме крови крыс с использованием ВЭЖХ и УФ-детектирования [3]. Также метод ВЭЖХ часто применяется для определения сорбиновой, бензойной кислот и сахарината натрия [4]. Разделить кофеин и полифенольные соединения позволяет мицеллярная электрокинетическая хроматография с обращенной полярностью [5]. Аскорбиновую кислоту определяют методами мицеллярной элек-

трокинетической хроматографии и капиллярного зонного электрофореза. Данные методы широко используются для определения аскорбиновой кислоты в лекарственных препаратах [6].

Сложная задача одновременного определения кофеина, аскорбиновой, сорбиновой, бензойной кислот, сахарината натрия и ацесульфама калия в пищевых продуктах успешно решается методом капиллярного электрофореза, который использован в настоящей работе.

Исследованные пробы напитков представлены в табл. 1.

Таблица 1

Виды исследуемых напитков

№	Тип проб	Название	Производитель	Нормативы
1	Вина	CinZanoBianco* (белый)	Давиде Кампари - Милано С.п.А.	ГОСТ 32030-2013
2		MONETO	Шек Италия С.п.А.	
3		Fragolino*	Каза Виникола Морандо	
4		«Молоко любимой женщины»	Биндерер Св. Урсула Вайнкеллерай	ГОСТ Р 51158-2009
5		MUSCAT PATRAS DEUS	Кавино	ГОСТ 32030-2013
6		Домашнее (купленное)	–	–
7		Домашнее	–	–
8	Энергетические напитки	Burn	The Coca-Cola Company	ТУ 9185-020-40227765
9		Strike	ООО «Напитки Очаково»	ГОСТ Р 52845-2007
10		Red Bull	Red Bull GmbH	ГОСТ Р 52844-2007
11		Flesh	ООО Пивоваренная компания «Балтика»	
12		Hell	ХЭЛЛ Энерджи Мадьярорсот КФГ	
13	Чай	«Принцесса Нури» (черный без сахара)	НЕП	ТУ 9191-001-39420178
14		Принцесса Нури» (черный с сахаром)		
15		««Принцесса Ява» (зеленый без сахара)	–	–
16		Lipton Ice tea	Unilever	ГОСТ 28188-89
17		Nestea	The Coca-Cola Company	ТУ 9185-021-40227765

Примечание. *Винный напиток.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы препараты (х.ч.): натрий тетраборнокислый десятиводный, додецилсульфат натрия, гидроксид натрия, соляная кислота, этилендиамин (комплексон III), сорбат калия, аскорбиновая кислота, бензоат натрия, кофеин фармакопейный, ацесульфам калия, сахаринат натрия.

Применялся буферный раствор, включающий 0,05 моль/л раствор натрия тетраборнокислого, 0,2 моль/л раствор додецилсульфата натрия, дистиллированную воду.

Определение концентрации компонентов в пробах проводили с использованием граду-

ировочных и контрольного стандартных растворов. Для этого готовили исходные растворы всех определяемых компонентов концентрации 1000 мг/л. К раствору аскорбиновой кислоты добавлялся комплексон III для увеличения срока годности (все растворы хранили в холодильнике при $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение нескольких месяцев или недель). Для приготовления градуировочного раствора № 1 в сухую плоскодонную колбу вместимостью 100 мл помещали по 5 мл растворов аскорбиновой и сорбиновой кислот, по 10 мл растворов бензойной кислоты, кофеина, сахарината натрия и ацесульфама калия, тщательно перемешивали. Для приготовления градуировочного



раствора № 2 в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 10 мл градуировочной смеси № 1, доводили до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Для приготовления градуировочного раствора № 3 в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 5 мл градуировочной смеси № 2, доводили до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Для приготовления контрольного раствора в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 5 мл градуировочной смеси № 1, доводили до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Номинальные значения массовой концентрации аскорбиновой и сорбиновой кислот в контрольной смеси составляли 10 мг/л, остальных компонентов 20 мг/л (табл. 2).

Таблица 2

Массовые концентрации компонентов в стандартных растворах

Компонент	Концентрация компонентов, мг/л			
	Градуировочные растворы			Контрольный раствор
	№ 1	№ 2	№ 3	
Кофеин	200	80	8	20
Аскорбиновая кислота	100	40	4	10
Сорбиновая кислота	100	40	4	10
Бензойная кислота	200	80	8	20
Сахаринат натрия	200	80	8	20
Ацесульфам калия	200	80	8	20

Работа проводилась с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель 103 РТ», с положительной полярностью источника высокого напряжения, внутренним диаметром капилляра 75 мкм, полной длиной капилляра 60 см и эффективной длиной 50 см. Система оснащена специализированным программным обеспечением на основе персонального компьютера. Детектор – фотометрический (254 нм) [1].

Перед выполнением измерений проводились работы: отбор и подготовка проб, подготовка и градуировка системы капиллярного электрофореза.

Подготовка капилляра. Для ежедневной подготовки капилляр непосредственно перед анализом промывали 5 мин раствором гидроксида натрия, 5 мин – дист. водой, 10 мин – раствором ведущего электролита. Между анализами капилляр промывали буферным раствором при напряжении +25 кВ в течение 5 мин.

Подготовка пробы. Анализируемую пробу напитка подготавливали, фильтруя в сухую посуду через целлюлозно-ацетатный фильтр (размер пор 0,2 мкм), отбрасывая первый 1 мл фильтрата. В сухую пробирку «Эппендорф» помещали 1 мл подготовленной пробы, центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин и регистрировали электрофореграммы. В применяемом буферном растворе (ведущий электролит) исследуемые соединения, кроме кофеина, находятся в ионизированном состоянии в форме анионов, что и позволяет для их отдельного определения применять капиллярный электрофорез. Кофеин же находится в недиссоциированном состоянии. Для его перевода в анионную форму в состав ведущего электролита вводили анионное поверхностно-активное вещество – додецилсульфат натрия (ДДС) 0,2 моль/л, при этом в растворе появлялись отрицательно заряженные мицеллы. Гидрофобные молекулы кофеина сольбилизируются мицеллами ДДС и вместе с ними перемещаются при наложении высокого напряжения на электроды к аноду. Таким образом, анионы кислот и мицеллярная форма кофеина разделяются вследствие различий их электрофоретических подвижностей.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1, 2 представлены примеры электрофореграмм исследованных напитков, на которых наблюдаются пик кофеина, анионов аскорбиновой, сорбиновой и бензойной кислот, сахарината натрия и ацесульфама калия.

Анализ пиков на электрофореграмме (см. рис. 1, а) показал, что по времени миграции (t_m) в пробе обнаружены: кофеин ($t_m = 5,5$ мин), сорбиновая кислота ($t_m = 8,2$ мин), ацесульфам калия ($t_m = 11,1$ мин). Присутствие указанных компонентов было подтверждено также методом стандартных добавок (см. рис. 1, б) по увеличению интенсивности пиков соответствующих веществ.

Анализ пиков на электрофореграмме (см. рис. 2, а) показал, что по времени миграции (t_m) в пробе обнаружены: кофеин ($t_m = 5$ мин), аскорбиновая кислота ($t_m = 6,7$ мин), сорбиновая кислота ($t_m = 7$ мин). Присутствие указанных компонентов было подтверждено также методом стандартных добавок (см. рис. 2, б) по увеличению интенсивности пиков соответствующих веществ.

По окончании анализа проводили разметку пиков. Всего было выполнено более 60 анализов.

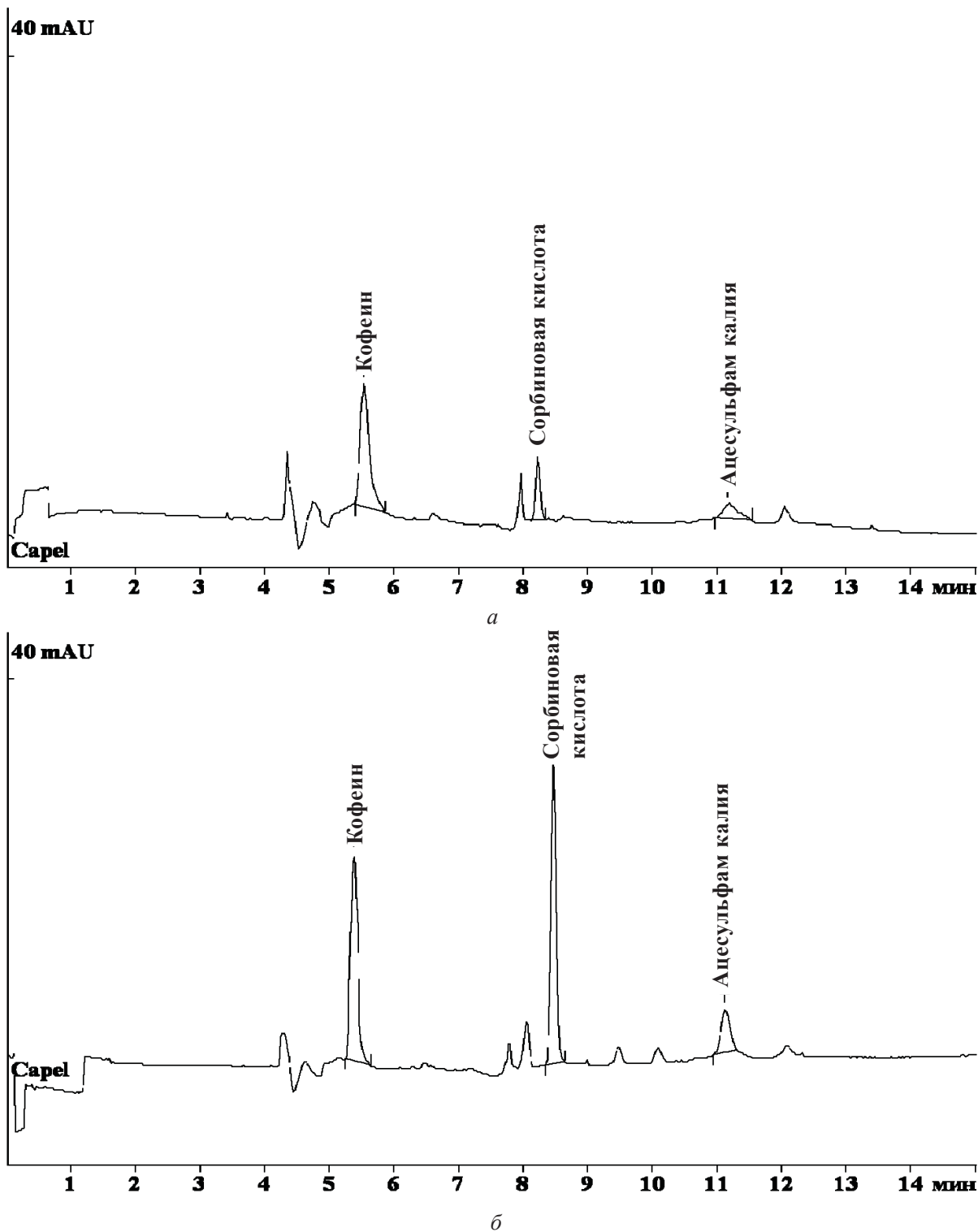


Рис. 1. Электрофореграммы энергетического напитка Hell: *а* – исходная проба, *б* – проба напитка с добавкой стандарта

Для определения концентрации пищевых добавок были сняты электрофореграммы градуировочных смесей (см. табл. 2), после обработки электрофореграмм по полученным данным

согласно программе «МультиХром 1.5» были построены градуировочные графики для каждого из определяемых компонентов, по которым находили их концентрации в напитках (табл. 3).

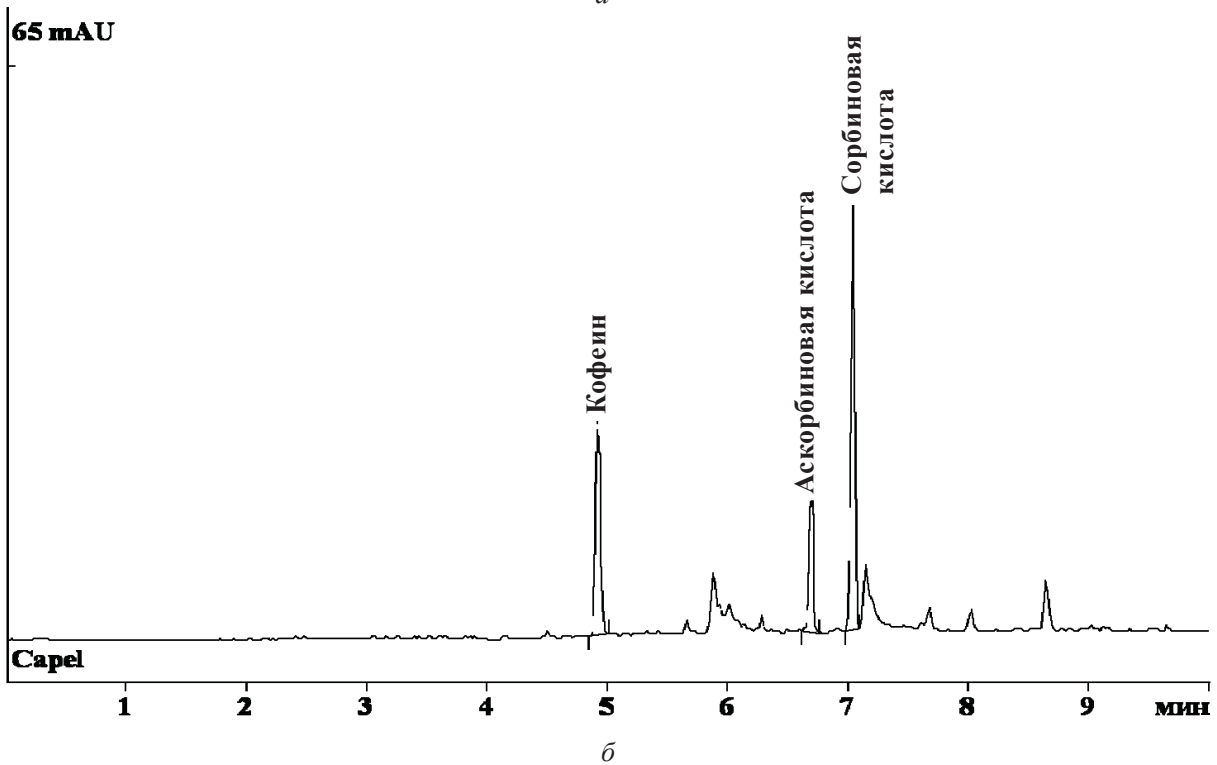
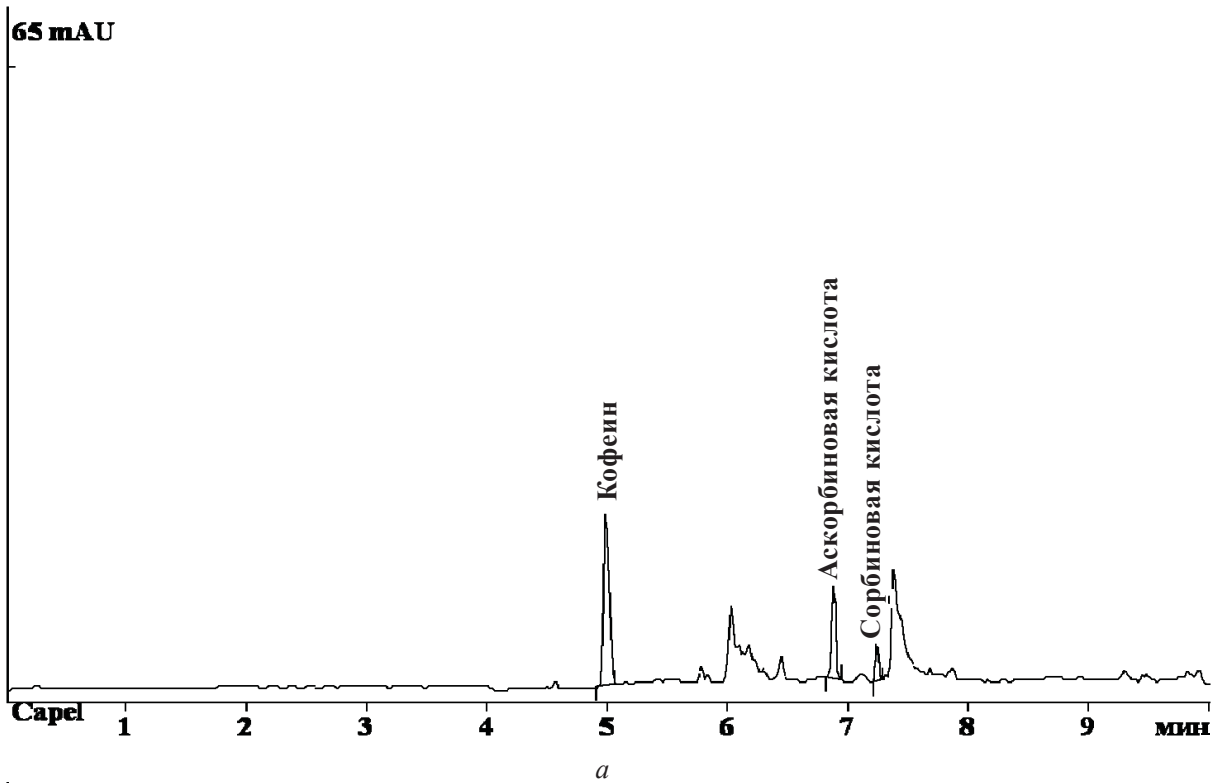


Рис. 2. Электрофореграммы чая «Принцесса Ява» (зеленый без сахара): а – исходная проба, б – проба напитка с добавкой стандарта

Всего было исследовано 17 проб напитков (см. табл. 1) на содержание 6 вышеуказанных пищевых добавок. Полученные результаты обобщены в табл. 4–6.

Анализ данных табл. 4 показал, что кофеин обнаружен в очень малых количествах только в пробе винного напитка «Fragolino». Аскорбиновая кислота обнаружена во всех винах, кроме



Таблица 3

Градуировочные графики для определения концентрации кофеина, консервантов и подсластителей, уравнения и величины достоверности аппроксимации

Компонент	$y = ax+b$	R^2	Градуировочный график
Кофеин	$y = 0,3175x - 0,2892$	0,9959	
Аскорбиновая кислота	$y = 1,1543x - 3,6606$	0,9989	
Сорбиновая кислота	$y = 6,0859x - 7,568$	0,9966	
Бензойная кислота	$y = 0,1509x - 0,5393$	0,9972	
Сахаринат натрия	$y = 0,1552x - 0,9555$	0,9909	
Ацесульфам калия	$y = 0,4191x - 1,2629$	0,9966	



MUSCAT PATRAS DEUS. Большое количество консервантов по сравнению с другими пробами вин отмечено в пробе MONETO, в нём же обнаружено большое содержание ацесульфам К.

Консервантов не было обнаружено лишь в CinZano Bianco, а подсластители содержались только в MUSCAT PATRAS DEUS, MONETO и белом вине «Молоко любимой женщины».

Таблица 4

Массовые концентрации компонентов в исследованных винах, мг/л

Вино или винный напиток	Кофеин	Аскорбиновая кислота	Сорбиновая кислота	Бензойная кислота	Сахаринат Na	Ацесульфам К
CinZanoBianco (белый)	–	8,29±1,66	–	–	–	–
«Fragolino»	6,41±0,77	8,03±1,61	1,85±0,52	–	–	–
Домашнее (купленное)	–	3,49±0,70	1,84±0,52	–	–	–
MUSCAT P. D.	–	–	1,94±0,54	–	21,1±2,5	–
MONETO	–	7,61±1,52	130±36	498±100	–	192±38
Домашнее	–	12,7±2,5	32,0±9,0	–	–	–
«Молоко любимой женщины»	–	6,39±1,28	15,8±4,4	50,4±10,1	–	48,1±9,6

Таблица 5

Массовые концентрации компонентов в исследованных чаях, мг/л

Чай	Кофеин	Аскорбиновая кислота	Сорбиновая кислота	Бензойная кислота	Сахаринат Na	Ацесульфам К
«Принцесса Нури» (черный без сахара)	159±19	7,28±1,46	1,58±0,44	–	–	–
«Принцесса Ява» (зеленый без сахара)	180±22	7,09±1,42	1,34±0,38	–	–	–
«Принцесса Нури» (черный с сахаром)	140±17	7,51±1,50	1,73±0,48	–	–	16,5±3,3
Lipton Ice tea	52,2±6,3	29,0±5,8	1,63±0,46	10,3±2,1	32,2±3,9	–
Nestea	49,1±5,9	3,66±0,73	1,36±0,38	–	–	176±35

Таблица 6

Массовые концентрации исследуемых компонентов в энергетических напитках, мг/л

Энергетический напиток	Кофеин	Аскорбиновая кислота	Сорбиновая кислота	Бензойная кислота	Сахаринат Na	Ацесульфам К
Burn	333±40	7,94±1,59	170±48	129±26	–	17,7±3,5
Strike	145±17	–	–	129±26	6,87±0,82	22,7±4,5
Red Bull	396±48	5,12±1,02	3,09±0,87	–	–	69,1±13,8
Flesh	286±34	530±106	14,5±4,1	172±34	–	–
Hell	386±46	–	5,02±1,41	–	–	45,7±9,1

Среди исследованных видов чая было обнаружено, что максимальное количество кофеина содержится в зеленом чае «Принцесса Ява», а минимальное – в прохладительном напитке Nestea. Прохладительные напитки LiptonIce teai Nestea содержат меньше кофеина, чем обычные чаи, которые нужно заваривать. Аскорбиновая кислота содержится в небольшом количестве в каждом виде чая, максимальное ее содержание имеет напиток LiptonIce tea. Следует отметить, что все виды чая имеют очень малое приблизительно одинаковое содержание сорбиновой кислоты. Добавки E210 и E954 обнаружены только в напитке Lipton Ice tea, а подсластитель ацесульфам К –

только в напитке Nestea и чёрном чае с сахаром.

При исследовании энергетических напитков обнаружено большое содержание кофеина в напитке Red Bull, он близок к предельно допустимой концентрации (табл. 7). Аскорбиновая кислота в большом количестве находится в напитке Flesh, а сорбиновая – в напитке Burn. Одинаковое содержание бензойной кислоты обнаружено в напитках Burn и Strike. Подсластители содержатся во всех энергетических напитках в предельно допустимой концентрации.

Для исследуемых пищевых добавок известен ряд нормативов по допустимым уровням содержания в продуктах питания (см. табл. 7).



Нормативы на содержание исследуемых пищевых добавок в напитках

Объект	Добавка, мг/л				
	Кофеин	Сорбиновая кислота	Бензойная кислота	Сахаринат натрия	Ацесульфам калия
Энергетические напитки	Не менее 151, не более 400 ГОСТ Р 52844-2007	300	150	80	350
		Сан Пин 2.3.2.1293-03			
Прохладительные напитки	–	300	150	80	350
		СанПиН 2.3.2.1293-03			
Вина (винные напитки)	–	300	200	80	350
		СанПиН 2.3.2.1293-03			

Сопоставление полученных результатов с нормативными значениями показало, что концентрацию бензойной кислоты, выше предельно допустимой, имели напитки: энергетический напиток Fresh, вино MONETO. Кофеин, консерванты, подсластители во всех пробах содержались в пределах допустимых норм.

Список литературы

1. Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». СПб. : ООО «Веда», 2006. С. 10–12.
2. Юрьев А. В. Применение метода капиллярного электрофореза при анализе фармпрепаратов // Актуальные проблемы аналитической химии : тез. докл. Всерос. конф. М., 2002. С. 107–108.
3. Новицкая Я. Г., Литвин А. А., Жердев В. П., Блынская Е. В., Кондаков С. Э. Количественный анализ кофеина и его метаболитов в плазме крови крыс с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии как метода для определения метаболических отношений // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2013. Т. 54, № 1. С. 56–60.
4. Ferreira I., Mendes E., Brito P., Ferreira M. A. Simultaneous determination of benzoic and sorbic acids in quince jam by HPLC // Food Res. Intern. 2000. Vol. 33, iss. 2. P. 113–117.
5. Карцова Л. А., Ганжа О. В. Мицеллярная электрокинетическая хроматография с обращенной полярностью при разделении полифенольных соединений и кофеина // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т. 7, вып. 6. С. 902–908.
6. Зыкова Е. В., Сандецкая Н. Г., Островский О. В., Воровский В. Е. Определение аскорбиновой кислоты в лекарственных препаратах методами капиллярного зонного электрофореза и мицеллярной электрокинетической хроматографии // Хим.-фарм. журн. 2010. Т. 44, № 8. С. 50–52.

УДК 547.812'497.1

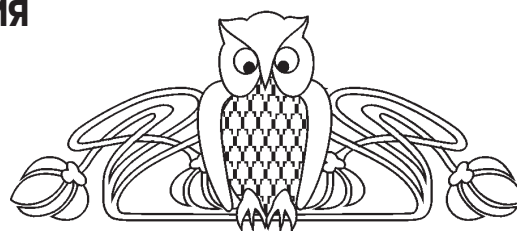
СТЕРЕОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕАКЦИИ 1,3-ДИПОЛЯРНОГО ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ В РЯДУ СОПРЯЖЕННЫХ ЕНОНОВ

А. А. Аниськов, И. Н. Ключкова, М. П. Щекина, К. А. Андреев, Р. С. Тумский

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского
E-mail: roma_ronaldinho@rambler.ru

Осуществлены реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения сопряженных диметилиденацетонов, содержащих различные периферические заместители с азометин-идами. Установлено, что взаимодействие не является хемоселективным и протекает с участием двух неэквивалентных реакционных центров диенона диастереоселективно с образованием смеси структурных изомеров эндоциклоприсоединения. Моноенон трансформируется в спиропирролизидин диастереоселективно.

Ключевые слова: 1,3-диполярное циклоприсоединение, ненасыщенные кетоны, азометин-идиды.



Stereochemical Aspects of Reaction of 1,3-dipolar Cycloaddition in a Row of Conjugated Enones

A. A. Aniskov, I. N. Klochkova, M. P. Schekina, K. A. Andreev, R. S. Tumskiy

The reaction of 1,3-dipolar cycloaddition of conjugated aryl(hetaryl) methyldeneacetones, which containing various peripheral substituents, with azomethine ylides was carried out. It was established that the interaction is not chemoselective and proceeds with the participa-