

На правах рукописи



**Тищенко Екатерина Александровна**

**ОЦЕНКА КАЧЕСТВА РАСТВОРИМОГО КОФЕ ПО СУММАРНЫМ  
ПОКАЗАТЕЛЯМ И СОДЕРЖАНИЮ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ**

**02.00.02 – Аналитическая химия**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

**Краснодар  
2018**

Работа выполнена на кафедре аналитической химии факультета химии и высоких технологий ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет»

**Научный руководитель:** **Цюпко Татьяна Григорьевна** –  
доктор химических наук, профессор

**Официальные оппоненты:** **Карцова Людмила Алексеевна** –  
доктор химических наук, профессор,  
кафедра органической химии Института химии  
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский  
государственный университет»

**Якуба Юрий Федорович** –  
доктор химических наук, доцент,  
ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный  
научный центр садоводства, виноградарства,  
виноделия»

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет имени М.В. Ломоносова»

Защита диссертации состоится «20» декабря 2018 г. в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 212.101.16 при ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет» по адресу: 350040, Краснодар, ул. Ставропольская д. 149, ауд. 3030Л.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», на сайтах ВАК Минобрнауки РФ <http://vak.ed.gov.ru> и ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет» <http://www.kubsu.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Киселева  
Наталья Владимировна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАУЧНОЙ РАБОТЫ

**Актуальность.** Растворимый кофе является широко потребляемым напитком благодаря экспрессности приготовления, натуральности, полезности, а также приближенности его органолептических свойств к свойствам исходного сырья.

Существующая оценка качества растворимого кофе основана преимущественно на контроле показателей безопасности и органолептических характеристик продукта. Из физико-химических показателей регламентированы содержания кофеина (характеристика степени натуральности), глюкозы и ксилозы (критерии обнаружения фальсификации), которые в большей степени характеризуют исходное сырье.

Изучению изменений состава зеленого и жареного кофе от различных, в том числе и технологических факторов, уделяется большое внимание, в то время как индивидуальный состав растворимого кофе (РК) изучен недостаточно.

Качество растворимого кофе, являющегося высушенным водным экстрактом молотого жареного кофе, зависит не только от сохранившихся в готовом продукте водорастворимых соединений («природных»), но и образовавшихся в процессе производства растворимого кофе компонентов («технологических»). Более того, внедрение новых технологий может приводить к существенному изменению состава продукта, например, разрушению некоторых биологически активных веществ. К сожалению, нередко на рынке оказывается и фальсифицированная продукция. Поэтому важно не только выявить компоненты (маркеры) растворимого кофе, содержание которых может изменяться в зависимости от состава сырья, технологии производства и существенно влиять на качество продукта, но и разработать простые, надежные и достаточно чувствительные методики их количественного определения в РК.

Общий алгоритм выявления и отбора обобщенных и индивидуальных показателей, характеризующих качество продукта, пока не разработан. Определенным решением такой проблемы может являться разработка и реализация подхода к отбору индивидуальных веществ-маркеров растворимого кофе для аналитического контроля и проведения химической экспертизы.

Работа выполнена в рамках проекта Госзадания Минобрнауки РФ (№ 4.2612.2017/ПЧ), и гранта РФФИ (№ 17-03-01254) с использованием научного оборудования ЦКП «Эколого-аналитический центр», уникальный идентификатор RFMEFI59317X0008.

**Целью научной работы** является обоснование, выбор индивидуальных и обобщенных показателей качества растворимого кофе, разработка методик их определения и изучение взаимосвязей между предложенными показателями.

Для реализации поставленной цели решались следующие задачи:

1. Обоснование подхода по выявлению и отбору веществ-маркеров, характеризующих качество растворимого кофе.
2. Изучение компонентного состава (биологически активных соединений) растворимого кофе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым (УФ) и масс-спектрометрическим (МС) детектированием.
3. Разработка методик ВЭЖХ-УФ определения состава растворимого кофе, позволяющих проводить оценку его качества по содержаниям веществ-маркеров и решать классификационные задачи в ходе экспертизы.
4. Разработка методик одновременного электрофоретического определения минорных и мажорных компонентов фенольной природы в растворимом кофе.
5. Исследование и установление взаимосвязей между содержаниями индивидуальных веществ-маркеров, а также обобщенными показателями качества растворимого кофе по данным анализа образцов различных производителей.

**Научная новизна.** Предложен подход по выявлению и отбору веществ-маркеров, характеризующих качество растворимого кофе, с учетом их физико-химических свойств и изменения компонентного состава продукта в ходе технологического процесса переработки исходного сырья. Выбраны вещества-маркеры качества растворимого кофе: кофеилхинные кислоты, кофеин, катехол и никотиновая кислота.

Предложена методика одновременного определения катехола и суммарного содержания кофеилхинных кислот в кофе методом капиллярного зонного электрофореза с УФ-детектированием (КЗЭ-УФ).

Разработана методика определения никотиновой кислоты в растворимом кофе методом КЗЭ-УФ с использованием стэкинга с большим объемом образца и обращением полярности (LVSS), обеспечивающая *on-line* концентрирование аналита с фактором эффективности концентрирования 70.

**Практическая значимость.** Предложены условия одновременного электрофоретического определения катехола и суммарного содержания кофеилхинных кислот, содержащихся в кофе на разных концентрационных уровнях.

Разработана методика (метод) измерений массовой концентрации никотиновой кислоты в пробах растворимого кофе методом капиллярного зонного электрофореза с применением стэкинга с большим объемом образца (свидетельство № 08-47/411.01.00143-2013.2018 от 25.09.2018 г., выдано ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»).

Разработанные методики могут быть применены в контрольно-аналитических лабораториях предприятий пищевой промышленности и других организаций.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Методический подход по выявлению и отбору веществ-маркеров, характеризующих качество растворимого кофе.

2. Результаты установления компонентного состава растворимого кофе и определения кофеина, 5-*O*-кофеилхинной (5-*O*-КХК) и 3-*O*-кофеилхинной (3-*O*-КХК) кислот методом ВЭЖХ-УФ-МС.

3. Результаты классификации растворимого кофе по происхождению на основе данных ВЭЖХ-УФ-хроматограмм и создания визуального образа этого продукта с применением хемометрических подходов.

4. Методика одновременного определения катехола и суммарного содержания кофеилхинных кислот (КХК) в кофе методом КЗЭ. Экспериментальное подтверждение «технологической» природы катехола в кофе.

5. Результаты оптимизации условий разделения и *on-line* концентрирования никотиновой кислоты при ее определении методом КЗЭ-УФ с применением стэкинга с большим объемом образца и обращением полярности.

6. Взаимосвязи между суммарными показателями (железовосстанавливающая способность, индекс обжарки) и индивидуальными веществами-маркерами, характеризующими качество растворимого кофе (КХК, 5-*O*-КХК, 3-*O*-КХК, катехол, никотиновая кислота).

**Публикации и апробация работы.** По теме диссертационной работы опубликовано 3 статьи в журнале, рекомендованном ВАК, и 7 тезисов докладов. Результаты исследований докладывались на следующих научных мероприятиях: II Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием (г. Краснодар, 2015 г.), Четвертая, Пятая и Шестая Республиканские научные конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ» (г. Минск, 2015, 2017, 2018 гг.), III Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием (г. Краснодар, 2017 г.), Третий съезд аналитиков России (г. Москва, 2017 г.), V Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (г. Краснодар, 2018 г.).

**Степень достоверности** результатов настоящей работы подтверждается удовлетворительной воспроизводимостью и правильностью аналитических результатов, их соответствием литературным данным, а также согласованностью результатов, полученных при использовании нескольких независимых методов исследования.

**Личный вклад автора** в научную работу состоит в постановке задач исследования, планировании и проведении экспериментов, обработке и интерпретации результатов,

подготовке публикаций и докладов, практической апробации результатов и формулировке защищаемых положений и выводов.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа изложена на 162 страницах машинописного текста, содержит 25 таблиц и 23 рисунка, состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждений полученных результатов, общих выводов, списка применяемых в работе сокращений и списка цитируемой литературы из 171 наименования.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Во введении** дано обоснование актуальности темы, практической значимости работы, сформированы цели и задачи исследования.

**В первой главе (Обзор литературы)** рассмотрены компонентный состав кофейных зерен, этапы производства растворимого кофе и изменения, происходящие с некоторыми соединениями в процессе получения продукта. Обобщены имеющиеся в литературе данные о содержаниях основных компонентов в растворимом кофе. Особое внимание уделено рассмотрению свойств и природе происхождения биологически активных компонентов: кофеину, фенольным соединениям, в частности хлорогеновым кислотам, меланоидинам, никотиновой кислоте. Обсуждены методы их определения. Сделаны выводы к обзору и постановка задач диссертационного исследования.

**Во второй главе (Экспериментальная часть)** указаны объекты исследования, реактивы, материалы, методы и методики проведения анализа. Экспериментальные исследования проводили на хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) со спектрофотометрическим детектором на основе диодной матрицы SPD-M20A (ДМД) и квадрупольным масс-детектором LCMS-2010EV (МС); системе капиллярного электрофореза Agilent<sup>3D</sup> CE G1600A, оснащенной диодно-матричным детектором (Agilent Technologies, США), спектрофотометрах Agilent 8453 с диодной матрицей (Agilent Technologies, США) и LEKI SS2107 (LEKI Instruments, Финляндия).

**Третья глава (Обсуждение результатов)** состоит из четырех разделов и посвящена обсуждению результатов исследования.

### **Разработка подхода по выявлению и отбору веществ-маркеров, характеризующих качество растворимого кофе**

При разработке подхода по выявлению и отбору веществ-маркеров, характеризующих качество растворимого кофе, опирались на особенности постадийного формирования его состава в процессе производства: сырье (зеленый кофе), обжаривание и измельчение (молотый жареный кофе), экстрагирование и сушка экстракта (растворимый кофе). Например, на стадии обжаривания зеленых кофейных зерен кофеилхинные кислоты

частично деградируют, образуя низкомолекулярные фенольные соединения, которые переходят в водный экстракт, концентрируясь в готовом продукте.

*Таким образом, подход по выявлению и отбору веществ-маркеров качества растворимого кофе* базируется 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.

*Теоретические аспекты.* Растворимый кофе (РК) является высушенным водным экстрактом молотого жареного кофе (ЖК). С учетом того, что в процессе производства растворимого кофе из жареных молотых зерен экстрагируется 40-45 % водорастворимых веществ, нами было предложено рассчитать степень концентрирования для компонента ( $K$ ) как отношение его содержания в растворимом кофе к содержанию в жареном и в зависимости от ее значения проводить выбор веществ-маркеров.

*Экспериментальные аспекты.* Состав растворимого кофе зависит от компонентов экстрагируемого сырья и используемых технологий производства. Проведенный сопоставительный анализ литературных данных о компонентном составе жареного и растворимого кофе позволил выделить компоненты (например, хинная, пироглутаминовая, изолимонная, никотиновая, кофеилхинные кислоты, меланоидины, тригонеллин), содержания которых в рассматриваемых продуктах существенно различаются, что может быть обусловлено влиянием технологических факторов производства кофе.

Сущность предлагаемого подхода по выявлению и отбору веществ-маркеров, характеризующих качество растворимого кофе, заключается в следующем. *Для соединений, не претерпевающих изменений в процессе экстракции и сушки, рассчитанная степень концентрирования близка к 2.5, при отклонении в ту или иную сторону можно предположить влияние технологических процессов на формируемый состав продукта.*

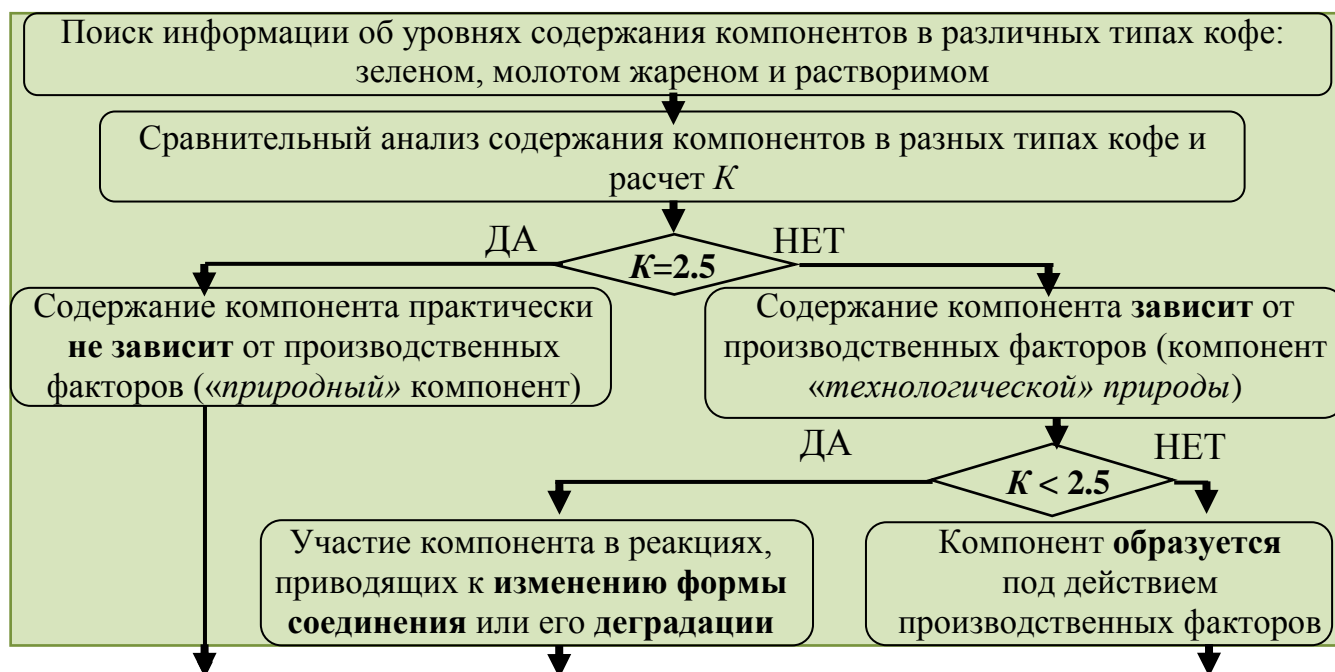
Исходя из этого, были выявлены сначала потенциальные вещества-маркеры, характеризующие качество растворимого кофе (таблица 1), затем из их перечня – те, которые, на наш взгляд, представляют наибольший интерес: являются биологически активными веществами. По этому принципу отобраны следующие вещества-маркеры: кофеин ( $K=2.5$ ) – соединение, характеризующее качество сырья; никотиновая кислота ( $K=3.2$ ) и меланоидины ( $K=0.2$ ) – компоненты «технологической» природы, а также 3-О-кофеилхинная ( $K=3.0$ ) и 5-О-кофеилхинная ( $K=2.2$ ) кислоты – соединения, характеризующие как качество сырья, так и технологические особенности производства растворимого кофе. Таким образом, предложен алгоритм выявления и отбора веществ-маркеров качества растворимого кофе, схематично представленный на рисунке 1.

Для создания системы показателей качества растворимого кофе актуальным является как разработка методик их определения, так и установление взаимосвязей между ними.

Таблица 1 – Рассчитанные коэффициенты концентрирования компонентов кофе

Потенциальные вещества-маркеры	Содержание, мг/г		Коэффициент концентрирования компонента $K$
	ЖК	РК	
<i>Кофеин</i>	15	37	2.5
<i>5-О-кофеилхинная кислота</i>	11	24	2.2
<i>3-О-кофеилхинная кислота</i>	4.0	12.0	3.0
<i>Никотиновая кислота</i>	0.17	0.55	3.2
<i>Меланоидины</i>	250	40	0.2
Тригонеллин	7	9	1.3
Пироглутаминовая кислота	0.9	8.8	10.4
Малеиновая кислота	0.1	0.5	4.5
Изолимонная кислота	1.3	18.3	14.1
Лимонная кислота	1.1	144	1.4
Фурановая кислота	0.2	0.5	3.3
Хинная кислота	9.4	44.0	4.7

1. Выявление потенциальных веществ-маркеров качества растворимого кофе



2. Отбор веществ-маркеров качества растворимого кофе

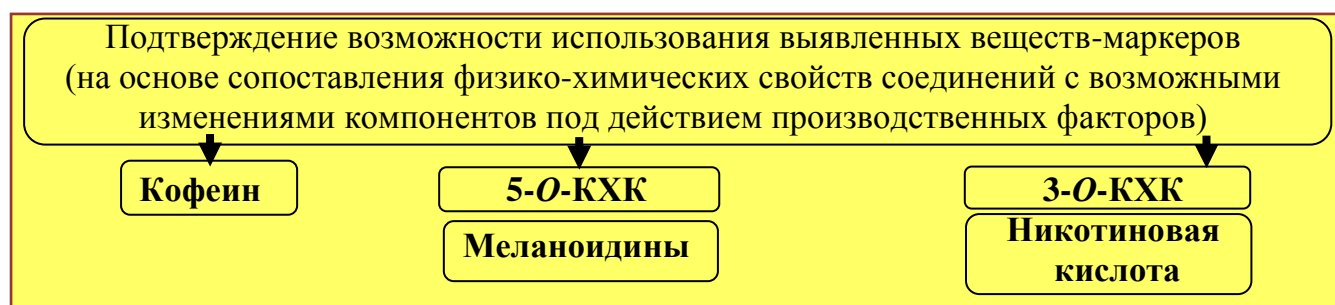


Рисунок 1 – Алгоритм выявления и отбора веществ-маркеров качества растворимого кофе



## Изучение компонентного состава и создание визуального образа растворимого кофе

**ВЭЖХ-УФ-МС анализ растворимого кофе.** Основными биологически активными компонентами кофе являются кофеин и соединения фенольной природы, в частности хлорогеновые кислоты, которые вносят вклад в формирование органолептических свойств напитка и обуславливают его полезные свойства.

Изучение компонентного состава растворимого кофе проводили методом ВЭЖХ-УФ-МС на различных образцах продукта. Для этой цели установлены хроматографические условия разделения веществ в обращено-фазовом режиме, включающие градиентное элюирование с возрастанием объемной доли метанола до 90 % в водном растворе 1 %-ной муравьиной кислоты. Хроматографирование раствора кофе в выбранных условиях привело к получению широкого спектра компонентов на хроматограмме (рисунок 2). Показано, что основное количество компонентов, детектируемых при 325 нм, имеют максимумы поглощения, характерные для гидроксикоричных кислот и их производных.

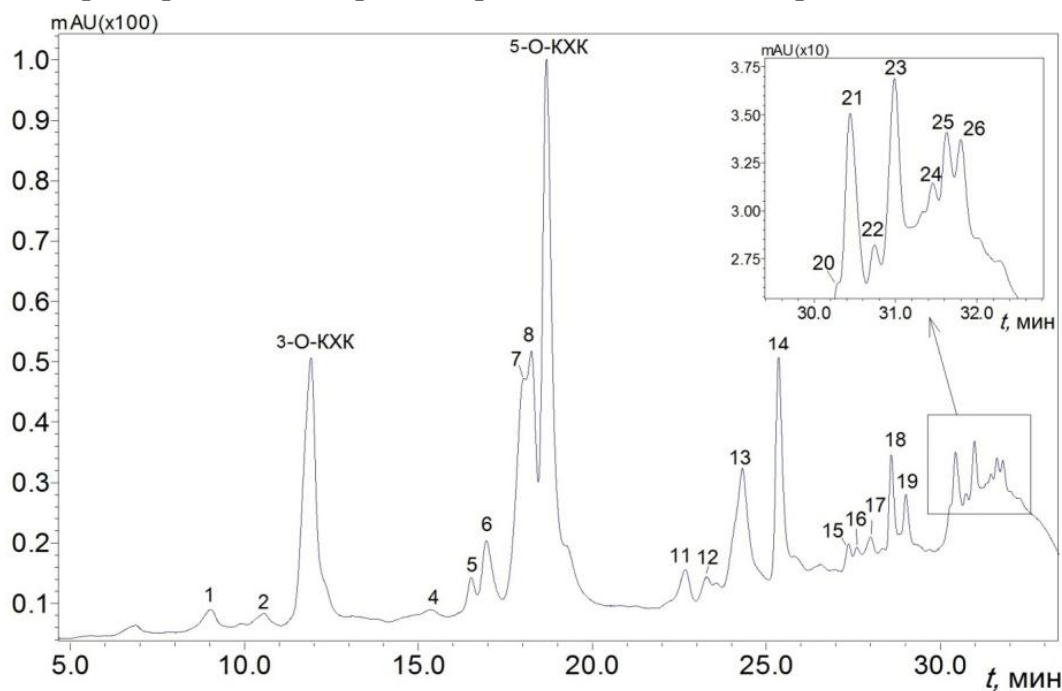


Рисунок 2 – Хроматограмма раствора растворимого кофе «Grand Classic» (325 нм)

**Качественный анализ компонентного состава растворимого кофе.** Идентификацию кофеина, детектируемого при 270 нм, и основных изомеров хлорогеновых кислот: 5-О-кофеилхинной (5-О-КХК) и 3-О-кофеилхинной (3-О-КХК), детектируемых при 325 нм, проводили путем сопоставления времен удерживания, УФ- и масс-спектров аналитов и стандартных веществ. Компоненты растворимого кофе, для которых отсутствовали стандартные вещества, идентифицировали сопоставлением с соответствующими характеристиками, описанными в литературе. Результаты проведенной идентификации представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты идентификации некоторых компонентов растворимого кофе

Класс соединений	Соединение		№ пика	Идентификационные параметры		
				$t_{уд}$ , мин	$\lambda_{max}$ , нм	$m/z$
Алкалоиды	Кофеин		10	21.2	272	195
Хлорогеновые кислоты	КХК	изомер	1	9.1	327	353
		3-О-КХК	3	11.9	234, 298, 325	353
		изомер	5	16.5	246, 269, 327	353
		изомер	6	16.9	244, 298, 326	353
		4-О-КХК	8	18.2	243, 297, 326	353
		5-О-КХК	9	18.7	242, 297, 326	353
	ФХК	изомер	7	18.0	243, 293, 326	367
		изомер	13	24.3	246, 294, 327	367
		изомер	14	25.3	245, 293, 326	367
	диКХК	изомер	18	28.6	247, 292, 326	515
		изомер	19	29.0	249, 291, 327	515
		изомер	21	30.4	248, 291, 327	515
	ФКХК	изомер	20	30.1	252, 281	529
		изомер	25	31.7	253, 281	529
Лактоны хлорогеновых кислот	лактон КХК	изомер	11	22.7	275, 327	335
		изомер	12	23.2	277, 327	335
	лактон ФХК	изомер	15	27.4	251, 283, 326	349
		изомер	17	28.0	252, 283, 327	349
	лактон диКХК	изомер	24	31.4	249, 283, 325	497
Производные хлорогеновых кислот	кофеил-триптофан		23	31.0	248, 283	365

Анализ ВЭЖХ-УФ-МС данных показал, что к мажорным компонентам кофе относятся кофеин, изомеры кофеилхлоридных кислот (КХК): 5-О-КХК, 4-О-КХК, 3-О-КХК и ферулоилхлоридные кислоты (ФХК). Группу минорных компонентов кофе составляют изомеры КХК, дикофеилхлоридных кислот (диКХК), ферулоил-кофеилхлоридных кислот (ФКХК), кофеил-триптофан и образующиеся в процессе обжаривания зерен лактоны хлорогеновых кислот (ХГК). В некоторых образцах удалось обнаружить также кумароилхлоридную кислоту. Таким образом, подобранные условия ВЭЖХ-УФ-МС анализа позволили разделить и идентифицировать мажорные и минорные компоненты растворимого кофе.

*Определение кофеина, 5-О-КХК и 3-О-КХК.* Основной представитель ХГК – 5-О-КХК является термически нестабильным компонентом кофейных зерен и в процессе их обжаривания подвергается изомеризации с образованием 3-О-КХК. Определение этих

кислот, наряду с устойчивым к температурным воздействиям кофеином, содержание которого в продукте регламентировано ГОСТ 32776-2014, может быть перспективным для оценки качества растворимого кофе. Установлено, что определение изучаемых компонентов в растворимом кофе возможно в диапазоне концентраций 0.65-40 мг/г. Результаты определения 5-О-КХК, 3-О-КХК и кофеина в образцах продукта, полученные методом ВЭЖХ-УФ представлены в таблице 3

Таблица 3 – Результаты определения биологически активных компонентов в некоторых образцах растворимого кофе

№ п/п	Наименование образца растворимого кофе	Содержание компонента, мг/г		
		3-О-КХК	5-О-КХК	Кофеин
1	Московская кофейня на паяхъ. Арабика	11.6 ± 0.7	23.0 ± 1.7	23.5 ± 1.5
2	Nescafe Classic	9.1 ± 0.5	14.9 ± 1.2	42.4 ± 1.1
3	Москофе продукт. Московский	8.4 ± 0.6	13.2 ± 1.1	34.8 ± 2.0
4	Cafe Pele	6.6 ± 0.4	11.4 ± 0.8	31.1 ± 1.9
5	Жардин Гватемала Атитлан	6.9 ± 0.3	9.8 ± 0.7	33.1 ± 1.3
6	Nescafe Gold	6.0 ± 0.4	8.9 ± 0.9	34.9 ± 1.2
7	Якобс Монарх	3.4 ± 0.3	5.3 ± 0.5	25.1 ± 1.1
8	Красная цена. Classic. Гранулированный	1.64 ± 0.11	2.91 ± 0.10	14.8 ± 0.5

Погрешность определения аналитов в модельных растворах, полученная методом «введено-найдено», не превышала 5 %. Отмечено, что в образце «Красная цена. Classic. Гранулированный», отнесенному нами к продукту ненадлежащего качества по причине наличия нерастворимых в воде частиц, содержание кофеина было в 1.5 раза меньше установленной ГОСТом нормы (23 мг/г). Кроме того, для этого образца получены наименьшие по сравнению с другими содержания КХК.

**Применение хроматографического профиля для оценки качества растворимого кофе.** Получение информации о содержаниях всех возможных изомеров ХГК в растворимом кофе является процессом трудоемким, длительным, требующим большого числа стандартных веществ. В нашей работе применен хемометрический подход, позволяющий получить полезную для оценки качества продукта информацию на основе данных, полученных из ВЭЖХ-УФ-хроматограмм.

Рассмотрение ВЭЖХ-УФ-хроматограмм двадцати четырех образцов растворимого кофе разных коммерческих наименований позволило выявить наличие двадцати шести характерных пиков, количественная характеристика которых – площадь пика – служила основой для формирования массива данных. Его статистическая обработка включала проведение t-теста на равенство средних или дисперсионного анализа для выявления статистически значимых переменных с последующей классификацией образцов по рассматриваемому признаку методом главных компонент.

С применением этого хемометрического подхода рассмотрено влияние географического происхождения кофейных зерен на компонентный состав растворимого кофе. Принято допущение, что доступная информация для потребителей является верной. Проанализированы образцы кофе «Жардин», «Максимус» и «Московская кофейня на паяхъ», изготовленные из зерен вида Арабика разного географического происхождения. На основе площадей восьми статистически значимых (по данным дисперсионного анализа,  $p < 0.05$ ) пиков удалось выделить в отдельные группы образцы кофе Арабика из Кении, Гватемалы, Мексики, Бразилии и Колумбии (рисунок 3, а). Причем последнюю группу составили образцы, изготовленные разными производителями. На образцах растворимого кофе из Кении отмечено, что образцы с истекшим сроком годности не попадают в соответствующую им группу по происхождению.

Кроме того, установлено, что технология высушивания образца не оказывает статистически значимого влияния на компонентный состав растворимого кофе (рисунок 3, б)

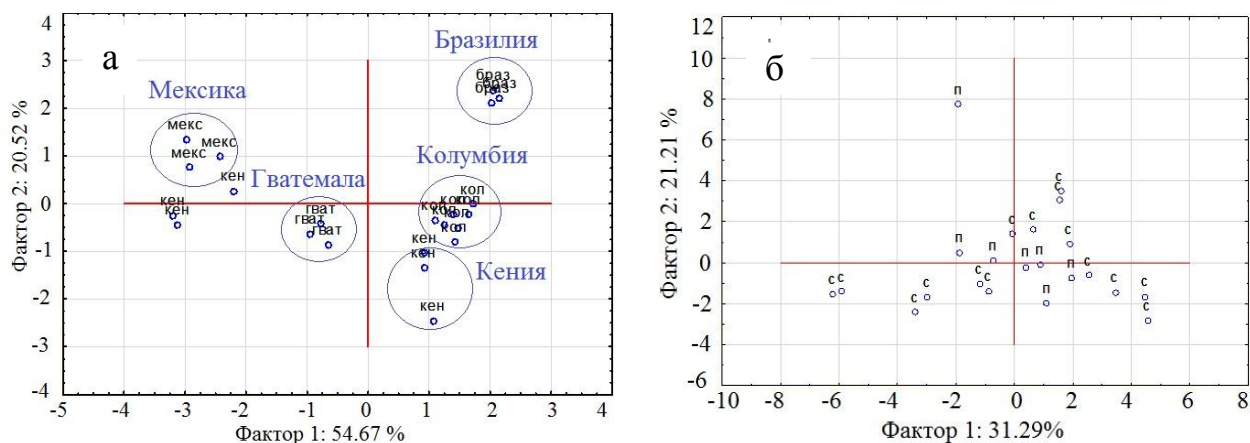


Рисунок 3 – Проекция наблюдений на факторную плоскость образцов для группирующих переменных; а – происхождение, б – технология, где «с» – сублимационная сушка, «п» – сушка распылением

Принимая во внимание, что при оценке качества продукта необходимо опираться не только на содержания компонентов, но и на соотношения между содержаниями некоторых соединений, был получен также массив на основе соотношения площадей пиков ВЭЖХ-УФ-хроматограмм (общий вид хроматограмм и нумерация пиков представлены на рисунке 2). Эти данные послужили основой для создания визуального образа растворимого кофе. Статистический анализ массивов данных позволил выявить двенадцать характерных для кофе Арабика соотношений площадей пиков ( $p < 0.10$ ), из которых выделены шесть невязанных переменных:  $S_{12}/S_{17}$ ,  $S_3/S_{19}$ ,  $S_{12}/S_2$ ,  $S_9/S_{11}$ ,  $S_3/S_2$ ,  $S_9/S_{19}$  ( $p < 0.05$ ). На их основе построены лепестковые диаграммы (рисунок 4). Отмечено, что для образцов молотого кофе разной степени обжаривания характерно существенное изменение

соотношения  $S_3/S_2$  (площадей пиков 3-О-КХК и изомера КХК, рисунок 4, а). Для большинства проанализированных образцов растворимого кофе выявлена типичность построенных образов. Статистическая обработка результатов позволила установить верхнюю и нижнюю границы изменения соотношений выделенных пиков. Показано, что пригодные к употреблению образцы попадают в установленный визуальный образ (рисунок 4, б). Образцы с истекшим сроком годности имеют несколько иной образ: наблюдается увеличение соотношения  $S_9/S_{11}$  (площадей пиков 5-О-КХК и лактона КХК) в среднем в 2.5 раза (рисунок 4, в). Это свидетельствует о возможности использования визуального образа, полученного на основе отношений площадей пиков на ВЭЖХ-УФ-хроматограмме, для экспресс-оценки качества растворимого кофе.

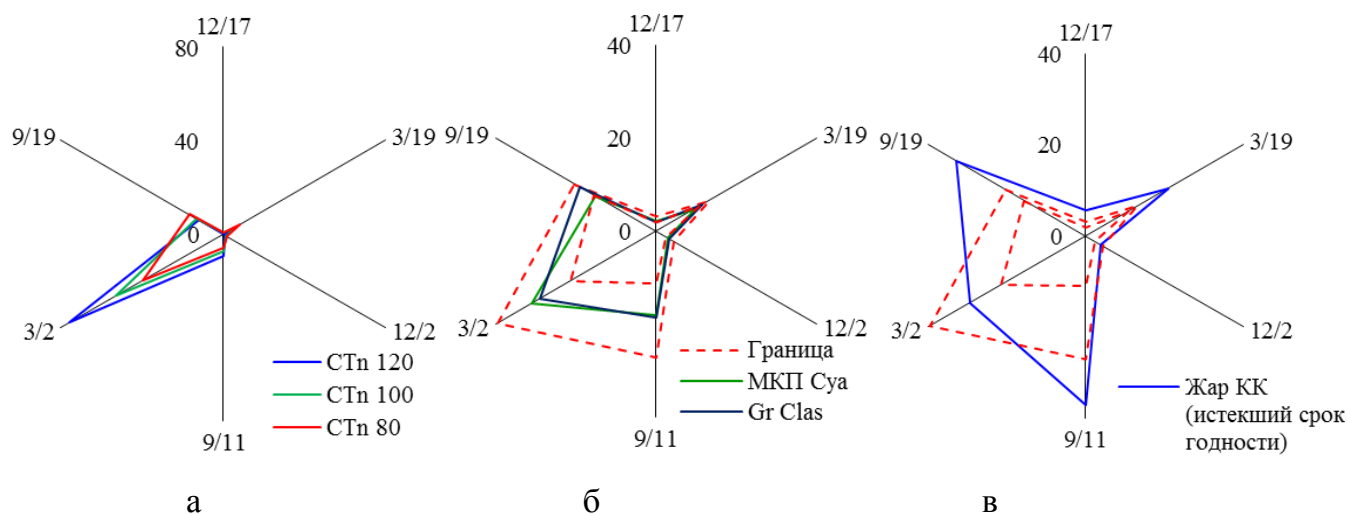


Рисунок 4 – Образы для образцов молотого кофе Робуста слабой (СТn 120), средней (СТn 100) и сильной (СТn 80) степени обжаривания (а), растворимого кофе пригодного к употреблению (б) и с истекшим сроком годности (в)

### Определение соединений фенольной природы в растворимом кофе методом капиллярного зонного электрофореза

Для определения ионогенных и полярных биологически активных веществ наряду с методом ВЭЖХ применяется альтернативный ему метод капиллярного электрофореза (КЭ), главными достоинствами которого являются выигрыш в эффективности разделения, более простая процедура пробоподготовки и малый расход реагентов.

В качестве аналитов при электрофоретическом анализе раствора растворимого кофе рассмотрены кофеилхинные кислоты (КХК) как мажорные компоненты, сохранившиеся в процессе обжаривания зерен, и катехол (КТ) – минорный компонент, являющийся потенциальным продуктом деградации некоторых компонентов зерен, в том числе КХК.

Для одновременного определения КХК и КТ, содержания которых в растворимом кофе находятся на разных концентрационных уровнях, проведен выбор условий их разделения методом капиллярного зонного электрофореза: тип электролита, его

концентрация и рН. Использование боратного буферного раствора в качестве электролита повышает селективность разделения определяемых соединений фенольной природы и других компонентов пробы за счет образования отрицательно заряженного комплекса между борат-ионом и фенольным соединением, содержащим ортогидрокси-группы (Vaher M., Koel M. J. *Chromatogr. A*, 2003). Варьирование концентрации буфера (30-70 мМ), его рН (9.3-9.6) и напряжения в системе (20-30 кВ) при анализе водного раствора растворимого кофе показало, что увеличение значений изучаемых параметров приводит к улучшению разрешения между пиками аналитов и компонентами матрицы. Одновременное детектирование пика катехола (разрешение  $R > 2$  при  $\lambda = 210$  нм) и двух пиков КХК: 5-О-КХК и 3-О-КХК ( $\lambda = 324$  нм) обеспечивается использованием буферной системы (рН 9.5, 40 мМ) при наложении напряжения 25 кВ.

Изучение зависимости площади пика от времени ввода раствора пробы с различным содержанием растворимого кофе позволило выбрать достаточную для одновременного определения КХК и КТ массу навески (0.6 г на 100 мл воды) и время ввода 6 с. Полученные в выбранных условиях электрофореграммы раствора растворимого кофе представлены на рисунке 5.

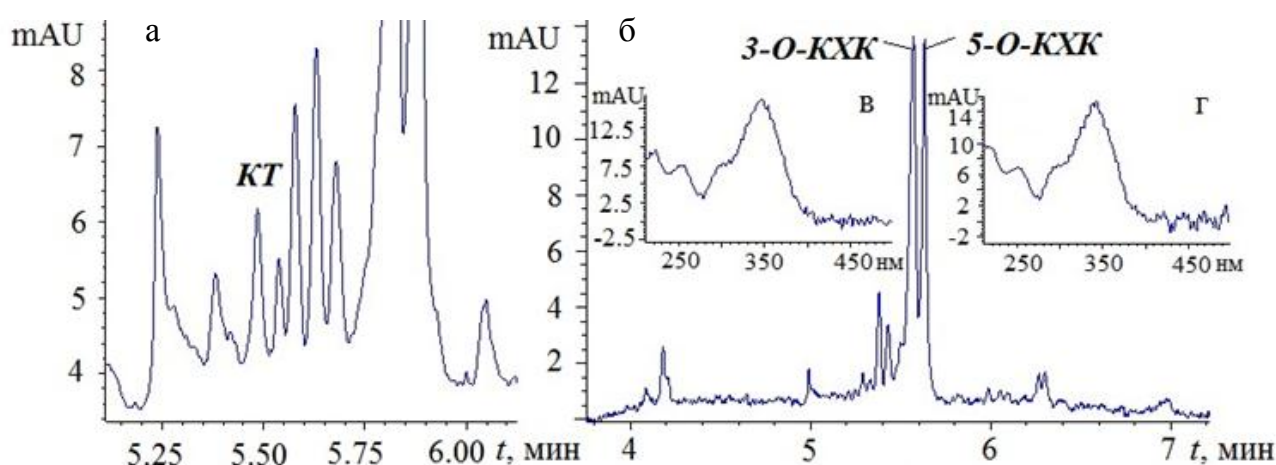


Рисунок 5 – Электрофореграммы раствора растворимого кофе «Nescafe Classic», зарегистрированные при длине волны 210 (а) и 324 (б) нм и спектры, соответствующие 3-О-КХК (в) и 5-О-КХК (г).

Условия: проба: раствор 0.6 г кофе в 100 мл воды; ввод пробы:  $6 \times 50$  мбар; электролит: боратный буферный раствор 40 мМ, рН 9.5; условия разделения:  $U = +25$  кВ,  $t = 25$  °С

Известно, что кофеилхинные кислоты являются преобладающими фенольными компонентами в растворимом кофе, а их содержания обуславливают пищевую ценность продукта. Методом ВЭЖХ возможно разделение изомеров КХК, однако 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.



В выбранных электрофоретических условиях КХК детектируются в виде двух пиков (5-О-КХК и 3-О-КХК). Обоснована возможность миграции третьего основного изомера – 4-О-КХК в одной зоне с 3-О-КХК и сделано предположение, что по разработанной нами методике суммарный сигнал (площадь двух пиков) формируется всеми изомерами КХК. Для доказательства правильности определения суммарного содержания КХК проведено сопоставление результатов, полученных методами ВЭЖХ и КЗЭ (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты определений КХК в образцах растворимого кофе различными методами

Наименование образца	ВЭЖХ		КЗЭ		
	Сумма содержаний КХК, мг/г		Суммарное содержание КХК, мг/г	$\Delta_{отн}, \%$	
	трех изомеров (C <sub>3</sub> )	шести изомеров (C <sub>6</sub> )		C <sub>3</sub>	C <sub>6</sub>
Якобс Монарх	11.7	13.7	13.3 ± 0.8	13.7	2.9
Grand Classic	19.4	22.1	21.0 ± 1.1	8.2	5.0
Жардин Колумбия Меделлин	21.7	25.3	23.7 ± 1.6	9.2	6.3
Московская кофейня на паяхъ. Арабика	52.6	56.5	54.8 ± 2.3	4.3	3.0

При этом рассматривали рассчитанные по результатам ВЭЖХ-УФ-МС анализа суммы трех мажорных изомеров КХК (C<sub>3</sub>), а также всех изомеров этой кислоты (C<sub>6</sub>). Как видно из приведенных данных, суммарное содержание КХК, полученное методом КЗЭ, близко к сумме трех изомеров (погрешность не превышает 14 %). Дополнительный учет содержания минорных кислот (которое по данным ВЭЖХ составляют 11 % от общего содержания КХК) при сопоставлении данных (C<sub>6</sub>) приводит к уменьшению расхождения между суммарным содержанием КХК (метод КЗЭ) и суммой кислот при их определении методом ВЭЖХ (погрешность не превышает 7 %). Это является косвенным доказательством того, что определяемая разработанной методикой величина соответствует суммарному содержанию изомеров КХК.

Для *доказательства «технологической» природы образования катехола* были определены содержания КТ и ХГК методом КЗЭ в образцах молотого зеленого и изготовленного из него жареного кофе известной степени обжаривания: слабой (СТп 120), средней (СТп 100) и сильной (СТп 80) (рисунок 6). Показано, что с увеличением степени обжаривания кофе наблюдается изменение содержания компонентов: уменьшение КХК и увеличение КТ.

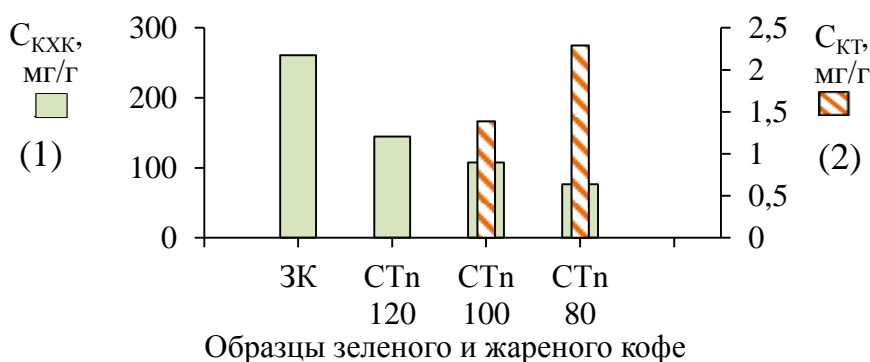


Рисунок 6 – Содержания КХК (1) и КТ (2) в образцах молотого кофе слабой (СТn 120), средней (СТn 100) и сильной (СТn 80) степени обжаривания

Анализ массива данных, полученных в результате электрофоретического определения КТ и ХГК в образцах растворимого кофе неизвестной степени обжаривания (n=24), показал, что их содержания варьируются в диапазонах 0.40-0.85 и 9-55 мг/г соответственно; способ высушивания кофейного экстракта (распыление, агломерация, сублимация), вероятно, не оказывает существенного влияния на содержание этих компонентов. Образцы с низким содержанием кислот имеют высокое содержание КТ, в то время как в образце «Арабика» (Московская кофейня на паяхъ), содержащей максимальное количество КХК, этот компонент не был обнаружен (таблица 5). То есть на содержание КТ в растворимом кофе, вероятнее всего, существенное влияние оказывают параметры обжаривания зерен. Таким образом, катехол выбран нами в качестве потенциального вещества-маркера качества растворимого кофе.

Таблица 5 – Содержания КХК и КТ в некоторых образцах растворимого кофе

Наименование образца	Концентрация, мг/г	
	КХК	КТ
Максвелл Хаус	8.8 ± 0.5	0.80 ± 0.05
Якобс Монарх	13.3 ± 0.4	0.70 ± 0.04
Nescafe Gold	18.7 ± 1.2	0.54 ± 0.02
Жардин Гватемала Атитлан	23.1 ± 1.3	0.50 ± 0.01
Московская кофейня на паяхъ. Суаре	31.2 ± 1.2	0.41 ± 0.08
Московская кофейня на паяхъ. Арабика	54.8 ± 1.7	не найдено

### Определение никотиновой кислоты в растворимом кофе методом капиллярного зонного электрофореза с применением стэкинга с большим объемом образца (КЗЭ-LVSS)

В кофе содержатся как относительно стабильные к термическим воздействиям соединения (например, кофеин), так и малоустойчивые. Известно, что тригонеллин практически полностью разрушается в процессе обжаривания кофе, образуя одну из форм витамина В<sub>3</sub> – никотиновую кислоту (НК). В отличие от большинства продуктов



растительного происхождения, в которых она связана с другими соединениями: полисахаридами, пептидами и гликопептидами, в растворимом кофе НК как микрокомпонент находится преимущественно в свободной форме. Методом ВЭЖХ эта кислота определяется одновременно с другими компонентами: тригонеллином, сахарозой и др. Низкое содержание НК в растворимом кофе не позволяет проводить прямое определение методом КЗЭ. Нами была рассмотрена возможность внутрикапиллярного *on-line* концентрирования НК для ее определения в растворимом кофе методом КЗЭ-УФ. Для этапа концентрирования выбран вариант стэкинга с большим объемом образца и переключением полярности (*large volume sample stacking, LVSS*).

Оптимизацию условий метода КЗЭ-*LVSS* проводили с использованием раствора растворимого кофе в следующей последовательности:

- выбор условий, обеспечивающих удовлетворительное разрешение между сигналами НК и матрицы как методом КЗЭ, так и КЗЭ-*LVSS* (тип буферного раствора, его концентрация  $C_{\text{буф}}$  и рН, напряжение  $U$  в системе);

- оптимизация параметров *on-line* концентрирования при определении НК методом КЗЭ-*LVSS* (время ввода пробы  $t_{\text{ввод}}$ , время обращения полярности  $t_{\text{обр}}$ , напряжение обращения  $U_{\text{обр}}$  и масса навески кофе).

На первом этапе (метод КЗЭ без стадии концентрирования), апробированы фосфатный (рН 7.0) и боратный (рН 9.2) буферные растворы (40 мМ). Было установлено, что разрешающая способность выше, а время анализа в 1.5 раза меньше в боратном буферном растворе по сравнению с фосфатным. Поэтому боратный буферный раствор выбран для дальнейших исследований.

При варьировании концентрации раствора боратного буфера (10-70 мМ) и величины его рН (8.0-9.5) выделены буферные растворы, с применением которых на электрофореграммах анализируемой пробы удалось идентифицировать пик НК. Однако площади полученных сигналов оказались в ряде случаев недостаточны для их обработки, что привело к необходимости увеличения вводимого в капилляр объема пробы и концентрирования аналита.

При введении разбавленной пробы в течение 90 секунд возрастает количество анионов НК в капилляре по сравнению со временем ввода 6 секунд (КЗЭ), а последующее наложение отрицательного напряжения  $U_{\text{обр}}$  на входной конец капилляра приводит к обращению электроосмотического потока, что обеспечивает удаление матрицы из системы и концентрирование НК. В этих условиях наблюдается увеличение АС примерно в 7 раз.

Установлено, что наилучшее разрешение ( $R > 2$ ) достигается в буферном растворе с концентрацией 70 мМ и рН 9.0 (рисунок 7). Дальнейшее увеличение его концентрации нецелесообразно, т.к. наблюдается увеличение шума базовой линии. Установлено, что увеличение  $U$  от +20 до +30 кВ не приводит к существенному изменению значений

параметра разрешения и площади пика НК, однако сокращает время миграции НК на 3 минуты, что послужило решающим фактором при выборе оптимального значения напряжения +30 кВ.

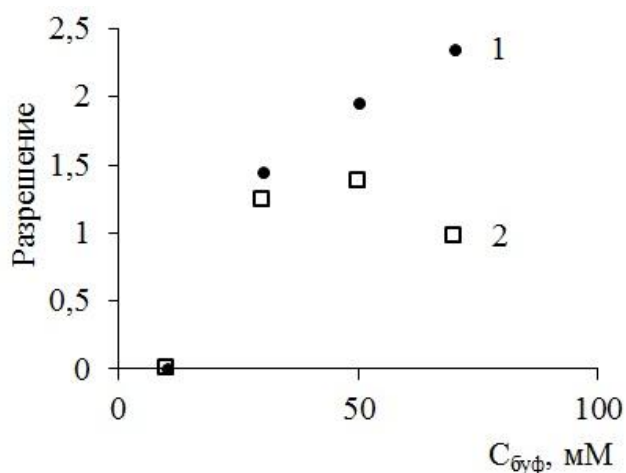


Рисунок 7 – Зависимости разрешения пиков НК и компонента пробы от концентрации буферного раствора при рН 9.0 (1) и 9.5 (2)

На втором этапе, при оптимизации условий *on-line* концентрирования НК, изучены влияния времени ввода пробы  $t_{ввод}$  и напряжения обращения полярности  $U_{обр}$  на время миграции НК и величину площади ее пика. Предварительно рассмотрено влияние времени обращения на величину формируемого сигнала при одновременном контроле силы тока ( $I$ ) в системе. Окончание процессов удаления матрицы и концентрирования аналита контролируется достижением значения  $I/I_0$  величины 85-99 % (где  $I_0$  – значения тока в капилляре, полностью заполненном рабочим буфером).

Для фиксированных параметров  $t_{ввод} = 500$  с и  $U_{обр} = -10$  кВ эти условия достигаются при времени обращения 4.0-5.0 минут (рисунок 8).

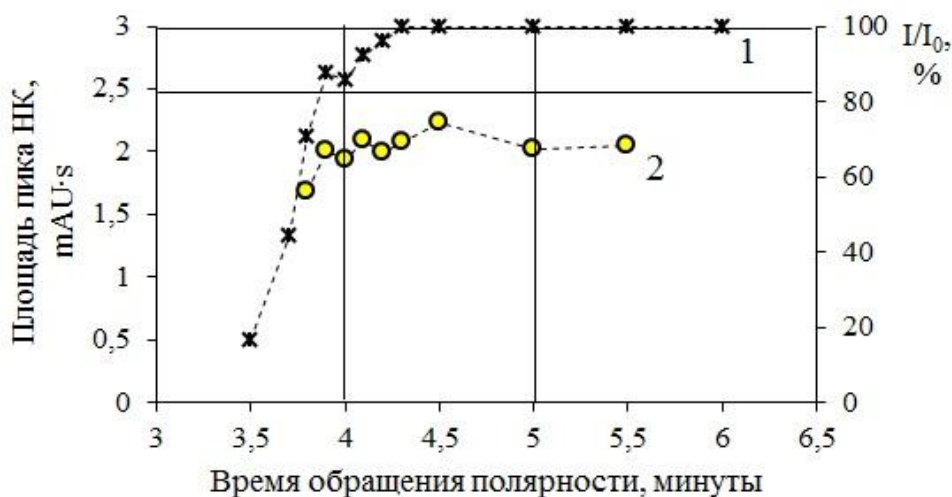


Рисунок 8 – Зависимости отношения величин  $I$  к  $I_0$  (1) и площади пика НК (2) от времени обращения полярности

проба: 0.03 г на 100 мл воды,  $t_{ввод} = 500$  с,  $U_{обр} = -10$  кВ,  $U = +30$  кВ,  $\lambda = 254$  нм

В этом случае площадь пика НК практически не изменяется ( $\approx 2.0$  mAU·s). При уменьшении  $t_{обр}$  наблюдается неудовлетворительное разрешение пиков, а при увеличении  $t_{обр}$  – удаление аналита из капилляра.

Аналогичным образом проведен эксперимент в условиях варьирования времени ввода пробы (400, 500, 600 секунд) и напряжения обращения полярности (-5, -10, -15 кВ).

Из приведенных данных видно (таблица 6), что к увеличению величины АС приводит уменьшение напряжения  $U_{обр}$  и увеличение времени ввода пробы в капилляр. Однако одновременно с этим наблюдается увеличение времени миграции НК. Поэтому в качестве оптимальных параметров стэкинга выбраны время ввода 500 с (при 50 мбар) и напряжение обращения полярности -10 кВ (время обращения 4.5 минуты). В этих условиях площадь пика линейно возрастает с увеличением массы навески от 0.02 до 0.06 г (на 100 мл воды).

Таблица 6 – Влияние времени ввода пробы и напряжения обращения полярности на площадь пика НК

Напряжение обращения, кВ	Площадь пика НК при времени ввода ( $t_{ввода}$ , с), mAU·s		
	400	500	600
- 5	1.9	2.6	2.8
- 10	1.6	2.0	2.4
- 15	1.4	1.5	1.5

В результате применения стэкинга с большим объемом образца фактор эффективности концентрирования НК (рассчитанный для пробы с содержанием образца 0.04 г на 100 мл воды) составляет 70. Предлагаемая методика прошла метрологическую аттестацию (свидетельство № 08-47/411.01.00143-2013.2018 от 25.09.2018). Метрологические характеристики методики представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Диапазон измерений, относительные значения показателей повторяемости, внутрिलाбораторной прецизионности и точности при доверительной вероятности  $P=0.95$

Диапазон измерений, (массовая концентрация), мкг/г	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r$ , %	Показатель внутрिलाбораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрिलाбораторной прецизионности), $\sigma_{Rл}$ , %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности $P=0.95$ ), $\pm\delta$ , %
От 250 до 2500 включ.	4	7	14

Разработанная методика апробирована на различных образцах растворимого кофе. Содержание НК в образцах варьируется в диапазоне 250-750 мкг/г. Отмечено, что в образце «Fresco Arabica Solo» с маркировкой «темная обжарка» концентрация НК примерно в 1.5 раза больше по сравнению с другими образцами. Это, вероятно, обусловлено образованием никотиновой кислоты на высокотемпературных этапах производства растворимого кофе.

## Установление взаимосвязей между потенциальными показателями качества растворимого кофе

Для разработки системы показателей для оценки качества растворимого кофе важен не только выбор веществ-маркеров качества продукта, но и установление взаимосвязей между ними, что является весьма существенным для выявления фальсификации и доказательства подлинности продукта.

Пищевая ценность растворимого кофе обусловлена содержанием в нем соединений фенольной природы. Эти компоненты обладают антиоксидантными свойствами и способны предотвращать окислительные процессы в организме человека, препятствуя развитию различных заболеваний. В растворимом кофе к антиоксидантам относят хлорогеновые кислоты, катехол, меланоидины и некоторые другие соединения. Одним из методов определения суммарного содержания восстановителей органической природы в продукте является метод FRAP с использованием индикаторной системы Fe (III) – *o*-фенантролин, концентрации компонентов которой 0.12 ммоль/дм<sup>3</sup> и 0.20 ммоль/дм<sup>3</sup> соответственно. Полученные значения железовосстанавливающей способности (ЖВС) для образцов варьируются в диапазоне 360-420 мкмоль ГК/г (ГК-галловая кислота).

Предложенный нами подход позволяет выявить и отобрать вещества-маркеры, чувствительные к технологическим особенностям производства кофе. Основным технологическим процессом, в наибольшей степени обуславливающим изменение содержания компонентов в растворимом кофе, является обжаривание зерен. Под действием высоких температур часть кофеилхиновых кислот (КХК) деградирует с образованием низкомолекулярных гидроксифенолов, основным из представителей которых является катехол (КТ). Частично эти кислоты изомеризуются: из 5-*O*-КХК образуется 3-*O*-КХК. Процесс обжаривания приводит к протеканию ряда сложных взаимодействий между углеводами и аминсоединениями (реакция Майяра и карамелизация), в результате которых формируются высокомолекулярные коричневые полимеры – меланоидины. Их содержание в продукте характеризуется индексом обжарки. Изменению подвергаются и малоустойчивые алкалоиды, например, тригонеллин, деградирующий с образованием никотиновой кислоты.

С помощью *корреляционно-регрессионного анализа* удалось подтвердить рассматриваемые взаимосвязи между предложенными показателями, т.е. установить существенные корреляции (при уровне статистической значимости  $p=0.05$ ): положительные между величиной ЖВС и содержанием 5-*O*-КХК ( $r_{\text{расч}}=0.71$ ;  $r_{\text{табл}}=0.48$ ;  $n=17$ ), величиной ЖВС и содержанием 3-*O*-КХК ( $r_{\text{расч}}=0.72$ ;  $r_{\text{табл}}=0.48$ ;  $n=17$ ), индексом обжарки и содержанием НК ( $r_{\text{расч}}=0.72$ ;  $r_{\text{табл}}=0.58$ ;  $n=12$ ), индексом обжарки и содержанием КТ ( $r_{\text{расч}}=0.73$ ;  $r_{\text{табл}}=0.50$ ;  $n=16$ ); отрицательные между индексом обжарки и содержаниями КХК ( $r_{\text{расч}}=0.81$ ;  $r_{\text{табл}}=0.53$ ;  $n=14$ ), содержаниями КХК и КТ ( $r_{\text{расч}}=0.78$ ;  $r_{\text{табл}}=0.40$ ;  $n=24$ ).

*Метод множественной линейной регрессии* позволил установить степень влияния содержания индивидуальных компонентов на величину индекса обжарки и получить соответствующие уравнения:

$$\text{Индекс обжарки} = 0.084 \cdot C_{\text{КТ}} + 0.001 \cdot C_{\text{КХК}} + 0.062 \cdot C_{\text{НК}} + 0,037$$

$$\text{Индекс обжарки} = 0.108 \cdot C_{\text{КТ}} + 0.003 \cdot C_{3\text{-}O\text{-КХК}} + 0.052$$

Содержание кофеина в растворимом кофе как признанный показатель качества этого продукта является связующим звеном между существующей и разрабатываемой системами оценок качества кофе, поскольку значение его содержания подтверждает качество анализируемого продукта.

Таким образом, предложенные взаимосвязанные показатели: содержание КХК, КТ, НК, ЖВС и индекс обжарки могут лечь в основу новой, наиболее чувствительной к технологическим особенностям производства системы оценки качества растворимого кофе.

### **Выводы**

1. Предложен методический подход по отбору и выявлению веществ-маркеров 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. Получены данные о качественном и количественном составе РК, выявлены вещества-маркеры, содержания которых являются показателями качества РК: кофеилхинные кислоты, в частности 5-О-КХКХ, 3-О-КХК, кофеин, катехол, никотиновая кислота.

2. Изучен качественный состав растворимого кофе методом ВЭЖХ-УФ-МС. Показано, что к мажорным компонентам кофе относятся кофеин, изомеры кофеилхинных и ферулоилхинных кислот, а к минорным – некоторые изомеры КХК, дикофеилхинные кислоты, лактоны хлорогеновых кислот, смешанные кофеил-ферулоилхинные кислоты, кофеил-триптофан. Определены содержания 5-О-КХКХ, 3-О-КХК и кофеина в кофе.

3. Показана возможность использования данных ВЭЖХ-УФ-хроматограмм для классификации образцов растворимого кофе по их происхождению. На основе полученных данных о соотношении площадей некоторых характеристических пиков, на примере растворимого кофе Арабика, создан «визуальный образ» исследуемого продукта, позволяющий выявить образцы растворимого кофе с истекшим сроком годности.

4. Показана возможность экспрессного определения кофеилхинных кислот одновременно с катехолом в растворимом кофе методом капиллярного зонного электрофореза. Доказано, что суммарное содержание КХК, определяемое по

разработанной методике, соответствует сумме содержаний ее изомеров. Обоснована «технологическая» природа катехола в продукте.

5. Показано, что определение никотиновой кислоты в растворимом кофе методом КЗЭ-УФ с применением процедуры *on-line* концентрирования позволяет достичь фактора эффективности концентрирования аналита 70. Разработана «Методика (метод) измерений массовой концентрации никотиновой кислоты в пробах растворимого кофе методом капиллярного зонного электрофореза с применением стэкинга с большим объемом образца» (МУ 08-47/411), позволяющая проводить определение в диапазоне 250-2500 мкг/г. Метрологические характеристики методики:  $\sigma_r = 4 \%$ ,  $\sigma_{RЛ} = 7 \%$ ,  $\pm\delta = 14 \%$ .

6. Исследованы взаимосвязи между выбранными веществами-маркерами и суммарными показателями, характеризующими качество растворимого кофе. Установлены (при уровне статистической значимости  $p=0.05$ ) положительные корреляции между величиной ЖВС и содержанием 5-О-КХК ( $r_{расч}=0.71$ ;  $r_{табл}=0.48$ ;  $n=17$ ), величиной ЖВС и содержанием 3-О-КХК ( $r_{расч}=0.72$ ;  $r_{табл}=0.48$ ;  $n=17$ ), индексом обжарки и содержанием НК ( $r_{расч}=0.72$ ;  $r_{табл}=0.58$ ;  $n=12$ ), индексом обжарки и содержанием КТ ( $r_{расч}=0.73$ ;  $r_{табл}=0.50$ ;  $n=16$ ), а также отрицательные корреляции между индексом обжарки и содержанием КХК ( $r_{расч}=0.81$ ;  $r_{табл}=0.53$ ;  $n=14$ ), содержаниями КХК и КТ ( $r_{расч}=0.78$ ;  $r_{табл}=0.40$ ;  $n=24$ ).

Методом множественной линейной регрессии установлена связь между индексом обжарки кофе и содержаниями катехола, кофеилхинных и никотиновой кислот.

### **Основное содержание научной работы изложено в публикациях:**

1. Цюпко, Т.Г. Спектрофотометрическая оценка железовосстанавливающей способности растворимого кофе / Т.Г. Цюпко, Е.А. Тищенко, О.Б. Воронова // Аналитика и контроль. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 320-329.

2. Тищенко, Е.А. Идентификация и хроматографическое определение биоактивных компонентов в образцах растворимого кофе / Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко, В.В. Милевская, А.З. Темердашев // Аналитика и контроль. – 2017. – Т. 21, № 3. – С. 251-261.

3. Тищенко, Е.А. Электрофоретическое определение соединений фенольной природы в растворимом кофе / Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко, О.Б. Воронова // Аналитика и контроль. – 2018. – Т. 22, № 2. – С. 197-205.

4. Тищенко, Е.А. Спектрофотометрическая оценка качества растворимого кофе / Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко // Материалы II всер. конф. по аналитической спектроскопии с междунар. участием. – Краснодар, 2015. – С. 219.

5. Тищенко, Е.А. Определение суммарного содержания биоактивных компонентов в растворимом кофе / Тищенко Е.А., Цюпко Т.Г., Николаева Н.А. // «Аналитика РБ-2015»:

сборник Четвертой респ. конф. по аналитической химии с междунар. участием. – 2015, Минск – С. 53.

6. Тищенко, Е.А. Определение хлорогеновой кислоты в растворимом кофе электрофоретическим и спектрофотометрическим методами / Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко, Е.С. Рябчун, О.Б. Воронова // «Аналитика РБ-2017»: сборник тез. докладов Пятой республ. конф по аналитической химии с междунар. участием. – Минск, 2017. – С. 179.

7. Тищенко, Е.А. Применение капиллярного зонного электрофореза для определения некоторых фенольных компонентов растворимого кофе / Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко, Е.С. Рябчун, О.Б. Воронова // «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез»: материалы III всер. конф. с междунар. участием. – Краснодар, 2017. – С. 48.

8. Тищенко, Е.А. Создание визуального профиля растворимого кофе по данным ВЭЖХ-анализа / Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко, Б.А. Ачмиз, К.С. Гуцаева, В.В. Милевская // Третий съезд аналитиков России: тез. докладов. – Москва, 2017. – С. 114.

9. Тищенко, Е.А. Оценка взаимосвязи между некоторыми компонентами растворимого кофе / Тищенко Е.А., Цюпко Т.Г., Воронова О.Б. // «Аналитика РБ-2018»: сборник статей Шестой респ. конф. по аналитической химии с междунар. участием. – 2018, Минск – С. 15.

10. Тищенко, Е.А. *On-line* концентрирование и электрофоретическое определение никотиновой кислоты в растворимом кофе / Е.А. Тищенко, Т.Г. Цюпко, А.С. Степаненко, О.Б. Воронова // «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии»: материалы V всер. симп. с междунар. участием. – Краснодар, 2018. – С. 262.

*Автор выражает глубокую признательность к.х.н В.В. Милевской, к.х.н О.Б. Вороновой, аспиранту К.С. Гуцаевой, а также сотрудникам кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО «КубГУ» за оказанную помощь и поддержку в проведении диссертационного исследования.*

Формат 60×84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумагаофсетная. Печать цифровая.  
Уч.-изд. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ №  
Издательско-полиграфический центр  
Кубанского государственного университета  
350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.