

УДК 615.074;543.426

¹Бельтюкова С.В., д.х.н., проф.; ²Теслюк О.И., к.х.н., доц., н.с.;¹Лівенцова О.О., к.х.н., доц.

ВИЗНАЧЕННЯ ТЕРМІНУ ВИТРИМКИ КОНЬЯКІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛЮМІНЕСЦЕНТНОГО СЕНСОРА НА ОСНОВІ КОМПЛЕКСУ ТЕРБІЮ(III)

¹Одеська національна академія харчових технологій, 65039 вул. Канатна, 112; e-mail: liventsova.helen@gmail.com

²Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дорога, 86, Одеса, Україна, 65080 e-mail: olgateslyuk@rambler.ru

Проблема якості алкогольних напоїв і, зокрема, коньяків є досить актуальною. При оцінці якості коньяку часто використовують суб'єктивний органолептичний спосіб дегустації його смаку й аромату, що у значній мірі залежить від кваліфікації й досвіду експерта. Недоліки нормативних показників якості й дорожнеча коньячних напоїв сприяє появі порівняно дешевих різних підробок від розведеного харчового й нехарчового етилового спирту з різними добавками до фальсифікації за марками та віком. Розведені в такий спосіб коньяки й коньячні спирти містять ароматизатори, цукровий колер, екстракти деревини дуба, ванілін і інші компоненти, що поліпшують смак напою й маскують вплив небажаних компонентів. Одним з показників справжності коньяку, є наявність у ньому фенольних і фуранових речовин.

Технологія виробництва коньяків передбачає тривалу витримку коньячних спиртів у дубових бочках або іншій тарі при обов'язковому контакті з деревиною дуба [1, 2]. Контакт коньячного спирту з дубовою деревиною приводить до його насичення речовинами фенольної природи, такими як ванілін, бузковий, коніфериловий, коричний альдегіди, ванілінова, бузкова, галова, ферулова кислоти й деякі інші поліфеноли [3], що надають коньякам специфічні властивості.

Для експресної оцінки вмісту фенольних і фуранових речовин у коньяках і коньячних спиртах можна використовувати спектрофотометрію УФ- і видимого діапазону. Поліфенольні сполуки мають

максимум поглинання при довжині хвилі 280 нм, проте як речовини, що надають колір коньяку, реєструють в області 420 нм. Компоненти цукрового колера, що додається в коньяк по рецептурі, містять велику кількість фуранових речовин, які мають максимум поглинання в області 280 нм. У витриманих коньячних спиртах, що не містять колер, оптична густина ($\lambda=280$ нм) формується тільки за рахунок поліфенольних сполук, що переходять у коньячний спирт із дубової деревини. У коньяках оптична густина ($\lambda=280$ нм) є результатом сумарного внеску поліфенольних сполук деревини дуба й компонентів колера. У зв'язку із цим для визначення справжності коньяку проводять вимір молярного коефіцієнта поглинання розведених розчинів коньяку при довжині хвилі 280 нм, при якій мають максимум поглинання поліфенольні сполуки [4]. При цьому в міру збільшення терміну витримки коньяку молярний коефіцієнт поглинання в цій смугі зростає. Однак, у цей час у продажі з'явилася велика кількість фальсифікату в якій додають палений цукор, екстракт чаю, настої рослинної сировини з високим вмістом дубильних речовин, що мають смугу поглинання в тій же області спектра з $\lambda=280$ нм. Тому цей показник не може бути використаний для достовірного визначення справжності коньяку й метод УФ-спектрометрії є попереднім. Для остаточної стандартизації, визначення справжності й терміну витримки коньяків потрібне індивідуальне визначення маркерів віку.

Одним з маркерів у визначенні справжності марочних вин і коньяків, які

прийнято витримувати в дубових бочках, є бузкова й галова кислоти. Галова кислота характеризує якість коньяку, залежність її вмісту від терміну витримки дозволяє використовувати цей показник як маркер віку.

Для визначення маркерів віку і якості коньяку застосовують методи високо-ефективної рідинної хроматографії [4-5], методи газової хроматографії [6, 9-11], а також у сполученні з мас-спектрометрією [7], електрофоретичний [8] і спектрофотометричний методи [5, 9, 14]. Останні однак, не є селективними. Всі застосовувані методи вимагають обладнання, яке дорого коштує і не завжди доступне.

Останнім часом увагу дослідників привертають хімічні сенсори у зв'язку зі своєю низькою вартістю, невеликими розмірами, можливістю в спеціальних умовах селективно визначати різні речовини як у лабораторному, так і при внелaboratorному застосуванні. Сенсори знаходять застосування в різних областях промисловості, медицини, сільському господарстві, при екологічному моніторингу й т.д. [13]. Особливий інтерес представляють люмінесцентні сенсори на основі іонів лантанідів європію(III) і тербію(III), у комплексах яких з органічними лігандами здійснюється внутрішньомолекулярний перенос енергії від молекули органічного ліганду до іона лантаніда, завдяки чому інтенсивність останнього значно зростає. Введення в систему лантанід-ліганд-сенсорибілізатор різних органічних сполук може також приводити до збільшення інтенсивності люмінесценції.

Мета роботи – розробка простої і селективної методики визначення одного з маркерів віку коньяку – галової кислоти, методом тонкошарової хроматографії з використанням у якості аналітичного сигналу твердофазної сенсорибілізованої люмінесценції сенсорної системи на основі комплексу іона Tb(III) з галовою кислотою в присутності донорно-активної добавки триоктилфосфін-оксиду (ТОФО).

Матеріали й методи

У роботі використовували стандартні розчини хлориду тербію (1×10^{-2} моль/дм³, 1 мг/см³), які готували з відповідного оксиду

марки «осч», шляхом розчинення його в хлористоводневій кислоті (1:1), з наступним видаленням її надлишку випаровуванням. Концентрацію тербію(III) контролювали комплексометричним титруванням розчином комплексу III з індикатором арсеназо I у присутності уротропіну. Стандартні розчини галової кислоти (1×10^{-2} моль/дм³, 1 мг/см³) і триоктилфосфін-оксиду (1×10^{-2} моль/дм³) готували розчиненням точних наважок в етанолі. Використовували розчинники (бензол, хлороформ, ацетон, метанол, етанол, етилацетат, діоксан), оцтову кислоту й аміак марки «х.ч.». Для хроматографування застосовували пластинки для ТСХ марки Sorbfil (сорбент силікагель, речовина, що зв'язує – силіказоль, підложка – алюмінієва фольга), Silufol, СШХ-1А, фірми Мерк.

Люмінесценцію іонів тербію(III) реєстрували в області 470-640 нм за допомогою спектрометра ІСП-51 з фотоелектричною приставкою ФЭП-1, а також спектрофлуориметра Fluorolog 3-22 “Horiba Jobin Yvon” (Франція) (безозонова Хе-Лампа 450W).

Експериментальна частина

Галова кислота (ГК) містить три гідроксильні групи й утворює з іонами лантанідів комплексні сполуки зі співвідношення Me:ГК = 1:2, у яких координація лантаніду здійснюється за ортодифенольним угрупованням [14]. У цих сполуках, внаслідок внутрішньомолекулярного переносу енергії від органічного ліганду до іону лантаніду проявляється сенсорибілізована люмінесценція іонів Tb(III), що значно зростає у шарі сорбенту. Оскільки для виділення галової кислоти з коньяків використовували метод тонкошарової хроматографії, то оптимальні умови люмінесценції іонів тербію(III) у присутності галової кислоти вивчені в тонкому шарі сорбенту на пластинках для ТСХ.

Результати та їх обговорення

При дослідженні типів хроматографічних пластинок, придатних для виділення галової кислоти було встановлено, що найбільш чітке зображення плям галової кислоти отримано на пластинках Sorbfil.

При виборі елююючих систем – (бензен : оцтова кислота; бензен : ацетон : оцтова кислота; бензен : оцтова кислота : вода; етилацетат : оцтова кислота; бензен : діоксан : оцтова кислота; хлороформ : метанол; ацетон : хлороформ; метанол : амоніак; етанол : етилацетат : амоніак) було встановлено, що оптимальними є системи кислотного характеру, зокрема етилацетат : оцтова кислота в співвідношенні 95:5 і бензен : метанол : оцтова кислота в співвідношенні 100:50:1. Остання обрано я якості рухомої фази. Рухливість (R_f) ГК у цих умовах склала 0,53.

При виборі об'єму проби на пластинку наносили 0,2-6,0 мкл проби. Найкращий результат був досягнутий при нанесенні проби об'ємом 1 мкл.

Інтенсивність люмінесценції Tb(III) на плямі хроматограми залежить від концентрації іону лантаніду у розчині для проявлення (табл. 1.). Як видно з табл. 1, найбільша $I_{\text{люм}}$ спостерігається при використанні розчину з концентрацією Tb(III) 1×10^{-3} моль/дм³.

Таблиця 1. Залежність $I_{\text{люм}}$ іона Tb(III) на хроматограмі від його концентрації у розчині для проявлення

$C_{\text{Tb(III)}}$, моль/дм ³	$I_{\text{люм}}$, відн.од.
1×10^{-4}	27
5×10^{-4}	42
1×10^{-3}	100
5×10^{-4}	95
1×10^{-2}	89

Оскільки комплексна сполука Tb(III) із ГК утвориться у слабкислому і нейтральному середовищі при значеннях рН 6,5-7,2, як буфер використовували 4%-ний розчин уротропіну.

Як показав експеримент, наявність поверхнево-активних речовин (ПАР) у розчині для проявлення, не робить посилюючого впливу на $I_{\text{люм}}$ сорбату Tb(III) у комплексі із ГК. Збільшення $I_{\text{люм}}$ сорбату комплексів Tb(III) зі ГК в 5 разів спостерігається при введенні в розчин для проявлення донорно-активної добавки – ТОФО. Можна припустити, що ТОФО гідрофобізує молекулу комплексу, захищає його від впливу дезактивуючих люмінесценцію молекул води. Це підтверджується й спектрами збудження

люмінесценції сорбатів комплексів (рис. 1). У присутності ТОФО характер спектра не змінюється, збільшується тільки його інтенсивність, що свідчить про зменшення безвипромінювальних втрат енергії збудження. Аналогічні зміни спостерігаються й у спектрі люмінесценції – збільшується інтенсивність смуги, що відповідає надчутливому переходу ($^5D_4 \rightarrow ^7F_5$, $\lambda=545$ нм), але максимум смуги не змінюється й не розщеплюється, що може бути непрямим доказом того, що молекула ТОФО не входить у внутрішню сферу комплексу.

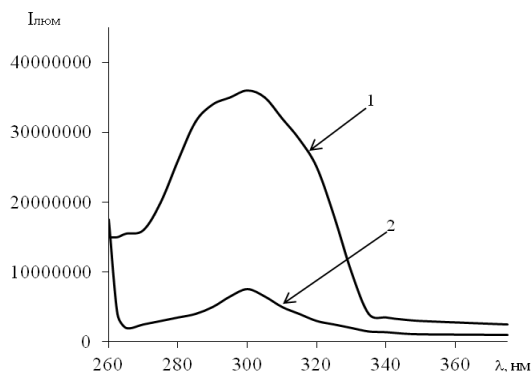


Рис. 1. Спектри збудження люмінесценції сорбатів комплексів Tb(III) - ГК у присутності (1) і відсутності (2) ТОФО.

Максимальне значення $I_{\text{люм}}$ сорбату Tb(III) виявляється при концентрації ТОФО в розчині для проявлення 1×10^{-3} моль/дм³.

У спектрі люмінесценції сорбату комплексу Tb(III) із ГК у присутності ТОФО найбільш інтенсивною є смуга, що відповідає надчутливому переходу $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ ($\lambda=545$ нм), значно слабкіші за інтенсивністю смуги з максимумами при 490, 586 і 620 нм (переходи з рівня 5D_4 на підрівні 7F_6 , 7F_4 , 7F_3 відповідно) (рис. 2.). У зв'язку із цим як аналітичний сигнал була обрана смуга люмінесценції з $\lambda = 545$ нм.

Лінійна область залежності $I_{\text{люм}}$ сорбатів комплексів від концентрації ГК спостерігається в інтервалі концентрацій 0,5-100 мкг/см³.

Це дозволяє використовувати люмінесцентні властивості сорбатів комплексу Tb(III) – ГК у присутності ТОФО у твердій фазі сорбенту на пластинках для ТШХ як аналітичний сигнал для визначення гальної кислоти як маркера віку коньяку.

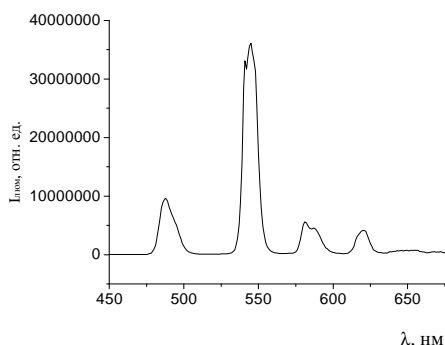


Рис. 2. Спектр люмінесценції сорбату комплексу Tb(III) –ГК у присутності ТОФО ($C_{\text{Tb(III)}} = 1 \times 10^{-4}$ моль/дм³; $C_{\text{ГК}} = 2 \times 10^{-5}$ моль/дм³).

На підставі проведених досліджень розроблена методика визначення маркера віку коньяку у зразках коньяку різних марок.

Методика визначення. Коньяк попередньо розбавляють етанолом у співвідношенні 1:10. 1 мкл аналізованої проби наносять мікросприцом на лінію старту хроматографічної пластинки розміром 40×80 мм. Паралельно на пластинку наносять стандартний розчин ГК. У якості стандартного використовують етанольний розчин ГК із концентрацією $5 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3}$ моль/дм³. Пластинку поміщають у хроматографічну камеру з рухомою фазою (суміш бензен:метанол:оцтова кислота в співвідношенні 100:50:1). Коли фронт розчинника досягає висоти 70 мм, пластинку витягають із камери й відзначають положення фронту розчинника. Отриману хроматограму висушують при температурі 40°C протягом 2 хв і рівномірно послідовно обробляють розчином хлориду Tb(III) з концентрацією 1×10^{-3} моль/дм³, 4%-вим розчином уротропіну та 1×10^{-3} моль/дм³ розчином ТОФО.

Таблиця 2. Результати визначення галової кислоти в коньяках різних термінів витримки ($n=5$, $P=0,95$)

Найменування коньяку (виробник)	Вік (років)	Знайдено ГК, мг/дм ³	S_r , %
«Баланешть» (Молдова)	5	3,62±0,23	6,3
«Квінт» ХО (Молдова, Тирасполь)	10	7,6±0,44	5,8
«Шустів» (Україна)	3	2,04±0,14	7,8
«Шустів» (Україна)	5	5,8±0,34	5,9
«Ювілейний» КС (Шустів, Україна)	10	8,2±0,42	5,2
«Volgrad» V.S. (Україна)	3	4,5±0,29	6,5
«Volgrad» V.V.S.O.P. (Україна)	5	6,35±0,38	6,0

Висновки

Вивчено можливість визначення маркера віку коньяку – галової кислоти у коньяках різних марок. Розроблено просту й надійну методику кількісного визначення галової кислоти у коньяках методом тонкошарової

Ідентифікацію ГК на пластинці проводять за появою зеленої люмінесценції Tb(III) під люмінесцентною лампою з $\lambda_{\text{збуд}} = 365$ нм візуально порівнюючи $I_{\text{люм}}$ проби і стандарту.

Кількісне визначення ГК проводять за градувальним графіком, для побудови якого поступають таким чином. На пластинку наносять різні кількості стандартного розчину ГК і далі проводять хроматографування і проявлення хроматограми як описано вище. Потім із пластинки вирізають плями з ГК, поміщають у кювету для твердих зразків, інтенсивність люмінесценції вимірюють при $\lambda_{\text{випр}} = 545$ нм. За отриманими даними $I_{\text{люм}}$ Tb(III) – концентрація ГК будують градувальний графік, за яким визначають вміст ГК в пробі, що аналізують.

Результати визначення ГК у коньяках різних термінів витримки наведені в табл. 2.

Отримані результати показують, що зі збільшенням терміну витримки (віку) коньяків вміст галової кислоти зростає, і цей показник може бути використаний як маркер віку. Однак, така залежність простежується тільки для зразків коньяків одного виробника. Для достовірної ідентифікації коньяків необхідно мати стандартні зразки різних термінів витримки та різних виробників.

Точність і вірогідність визначення ГК перевірена методом статистичної обробки результатів аналізу. При $n = 5$, $P = 0,95$ величина відносного стандартного відхилення S_r становить 5,2-7,0 %. Правильність отриманих результатів перевірена методом «введено-знайдено».

хроматографії. Як аналітичний сигнал запропоновано використовувати твердо фазну сенсibilізовану люмінесценцію іонів тербію(III) у комплексі з галовою кислотою в присутності триоктилфосфіноксиду.

Список використаних джерел

1. Егоров И.А., Родопуло А.К. Химия и биохимия коньячного производства. М.: *Агропромиздат*, 1988. С. 193.
2. Кишковский З.И., Мержаниан А.А. Технология вина. М.: *Легкая и пищ. пром.*, 1984. С. 504.
3. Оселедцева И.В., Гугучкина Т.И., Соболев Э.М. Динамика ароматических альдегидов и кислот в коньячных спиртах и коньяках. *Виноделие и виноградарство*. 2008, 6, 15–17.
4. Савчук С.А., Власов В.Н., Апполонова С.А. и др. Применение хроматографии и спектрометрии для идентификации подлинности спиртовых напитков. *Журн. аналит. хим.* 2001, 56(3), 246–264.
5. Селиверстова И.В., Иванов, А.А., Иванова Л.А. Определение органических кислот в вине методом жидкостной ионоэкслюзионной хроматографии. *Виноделие и виноградарство*. 2001, 4, 9–11.
6. Савчук С.А., Колесов Г.М. Хроматографические методы в контроле качества коньяков и коньячных спиртов. *Журн. аналит. химии*. 2005, 60(8), 848–868.
7. Власов В.Н., Маруженков Д.С. Анализ качества бренди из винограда методом хромато–масс–спектрометрии. *Виноград и вино России*. 1999, 1, 28–31.
8. Паноян А.Г., Мамиконян Г., Торосян М. Определение фенольных альдегидов в коньяках и

9. Якуба Ю.Ф., Агеева Н.М., Гугучкина Т.И. Определение ароматических альдегидов в коньячных спиртах и коньяках. *Виноделие и виноградарство*. 2005, 3, 15–18.
10. Скорбанова Е.А., Кайряк Н.Ф., Мамакова З.А. Современные методики выявления фальсифицированных вин. *Виноделие и виноградарство*. 2005, 6, 26–27.
11. Пложишникова М.А., Перельгин О.Н., Семикин В.В. Применение хроматографических методов для оценки качества и идентификации виноградных вин. М.: *Пищ. пром.*, 2006, 1, 9–13.
12. Якуба Ю.Ф., Ложникова М.С. Совершенствование аналитического контроля винодельческой продукции. *Аналитика и контроль*. 2011, 15(3), 309–312.
13. Власов Ю.Г., Легин А.В., Рудницкая А.М., Колодников В.В. Химические сенсоры и их системы. *Журн. аналит. химии*. 2010, 65(9), 900–919.
14. Георгиевский В.П., Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е., Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: *Наука*, 1990. С. 336.

Стаття надійшла до редакції: 14.11.2018.

DETERMINATION OF THE AGING TIME OF COGNACS USING A LUMINESCENT SENSOR BASED ON THE TERBIUM(III) COMPLEX

Beltyukova S.V., Teslyuk O.I., Liventsova E.O.

The possibility of identification of the maturation time (age) marker of cognac – gallic acid – in cognac using a terbium ion-based (III) luminescent sensor is shown. Gallic acid was isolated from cognac by thin layer chromatography on Sorbfil plates; the sample volume applied onto the plate was 1 μL . It was found that acidic systems, such as ethyl acetate : acetic acid in a ratio of 95: 5 and benzene : methanol : acetic acid (100: 5: 1) are best eluting; the latter was selected for the test. A solid-phase sensitized terbium ion luminescence (III) with gallic acid was used as an analytical response. It was established that surface active, as well as a number of donator active substances do not affect the intensity of the luminescence of the complex. An increased intensity of luminescence of the sorbate complex is recorded in the presence of a donor-active additive, trioctylphosphine oxide (TOPO). Analysis of the luminescence spectra and the excitation of the sorbates of the complex in the presence of TOPO allowed concluding that its molecule is not part of the internal sphere of the complex, but play a role of water repellent, protecting from water molecules which deactivate luminescence, which increases the intensity of luminescence. The maximum concentration of terbium ions (III) and TOPO in the developing solution is 10^{-3} mol/l. A 4% aqueous hexamine solution was used to achieve the optimal pH value (6.5-7.8) in a developing solution. The luminescence is excited at $\lambda_{\text{excit.}} = 365$ nm, the intensity of luminescence of terbium ions (III) is recorded at $\lambda_{\text{em.}} = 545$ nm. Gallic acid is identified according to the calibration curve. A simple and reliable technique has been developed for identification of the age marker of cognac – gallic acid – in different brands and various maturation periods of cognac. The correctness of the results obtained was verified by the spike test. The relative standard deviation is (S_r) 5.2–7.0%. The detection limit of gallic acid is 0.002 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: cognac, gallic acid, luminescent sensor, terbium (III) ion.