

УДК 543.054

М.Ф. ЗАЯЦ, Р.А. ЮРЧЕНКО, СМ. ПЕЩЕВ, В.А. ВИНАРСКИЙ

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРАКЦИОННОЙ ПРОБОПОДГОТОВКИ ПРИ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРАЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ КОНЬЯЧНОЙ ПРОДУКЦИИ

Extraction sample preparation method for the following quantitative gas chromatographic analysis of cognac production is developed. During this method water, hydrophilic, including thermally unstable, components remain in the aqueous phase and compounds more hydrophobic than 1-butanol go to the organic phase with the recovery higher than 95 %. Microcomponent composition of 16 samples of Georgian cognacs and cognac spirits by chromatographic mass-spectral method is investigated. The range of components typical for the original Georgian made cognac production is specified. The component content dependence on the cognac production age is found. Falsified Georgian made cognac samples with the declared age of 12-13 years are revealed.

В настоящее время в Республике Беларусь отсутствуют утвержденные методики определения происхождения и возраста коньячной продукции. И хотя исследования в этой области ведутся давно и накоплен обширный фактический материал, данные не обобщены и часто противоречивы [1-3].

Применение газовой хроматографии при исследовании алкогольной продукции распространено достаточно широко [4, 5]. Газохроматографический анализ с прямым вводом пробы является универсальным для определения летучих сильно гидрофильных веществ в исследуемом образце. Он эффективен для выявления фальсифицированной алкогольной продукции по таким маркерным веществам, как глицерин, пропиленгликоль и даже высокотоксичный этиленгликоль, добавляемым в качестве подсластителей и для придания «мягкости» вкусу [6]. При прямом введении пробы также наиболее просто обнаружить поликарбоновые и гидроксикислоты в коньячной продукции, свидетельствующие о добавлении виноматериала [6]. Однако наличие возникающих в этом случае проблем затрудняет достоверное количественное определение микрокомпонентного состава алкогольной продукции. Трудности связаны с присутствием в исследуемых образцах большого количества воды, этанола, нелетучих и термонестабильных ком

понентов, что приводит к размыванию пиков на хроматограмме, появлению «виртуальных» пиков, загрязнению и сокращению срока службы испарителя, колонки и детектора хроматографа [6, 7].

Указанные проблемы, как было показано в работах [6-9], могут быть в значительной степени устранены в процессе предварительной экстракционной пробоподготовки.

Экстракционные методы подготовки проб для извлечения и концентрирования определяемых компонентов и отделения матрицы используются достаточно широко [10], особенно при газохроматографическом определении следовых количеств веществ в сложных по природе объектах [11, 12].

Ранее нами было показано, что для пробоподготовки алкогольсодержащей продукции наиболее эффективны экстракционные системы с применением высаливателей, обеспечивающие удаление основного количества воды и этанола [13].

Основными задачами данной работы являются:

- разработка оптимальной экстракционно-высаливательной методики пробоподготовки для количественного анализа летучих компонентов коньячной продукции с помощью газовой хроматографии;
- определение характерных для коньячной продукции производства Грузии летучих компонентов;
- нахождение зависимости между возрастом анализируемой коньячной продукции и ее компонентным составом.

Экспериментальная часть

Использовались следующие вещества и реактивы: н-гексан марки «ч.», этанол-ректификат высшей очистки, диэтиловый эфир марки «ч. д. а.», сульфат аммония марки «х. ч.». н-Гексан очищался серноокислотной экстракцией.

Все опыты проводились при температуре 20 ± 1 °С.

Для выполнения экспериментальных исследований коньячной продукции применялся газовый хроматограф 5890 серии 2 фирмы Hewlett Packard с масс-селективным детектором серии 5972 и автосемплером серии 6890. Управлялся данный комплекс станцией Hewlett Packard Vectra серии 4, оснащенной системами Chemstation «Mustang» и Chemstation HP 3365 серии 2.

Газохроматографический анализ проводился на капиллярной колонке диаметром 0,2 мм и длиной 50 м с неподвижной жидкой фазой INNOWAX (модифицированный полиэтиленгликоль, интервал рабочих температур $40 \div 260$ °С). Его оптимальные условия были экспериментально установлены ранее путем исследования модельных смесей, включающих все классы соединений, представляющих интерес при качественном анализе вин, ви-номатериалов, коньяков и коньячных спиртов.

1. Температура колонки при хроматографическом разделении:
 - начальная $t=50$ °С в течение 3 мин;
 - скорость подъема от $t=50$ °С до $t=140$ °С при 3 °С в мин;
 - изотермический участок при 140 °С в течение 10 мин;
 - скорость подъема от $t=140$ °С до $t=200$ °С при 7 °С в мин;
 - изотермический участок при 200 °С в течение 10 мин;
 - скорость подъема от $t=200$ °С до $t=235$ °С при 8 °С в мин;
 - изотермический участок при 235 °С в течение 24 мин.
2. Время анализа - 90 мин.
3. Газ-носитель - гелий.
4. Общее давление газа-носителя - 200 кПа.
5. Скорость газа-носителя - $1 \text{ см}^3/\text{мин}$.
6. Скорость обдува прокладки - $4 \text{ см}^3/\text{мин}$.
7. Деление потока - $1/100$.
8. Объем вводимой пробы - 1 мкл.

В данных условиях был проведен газохроматографический анализ коньяков и коньячных спиртов производства Грузии разных сроков выдержки с прямым вводом пробы и с предварительной пробоподготовкой. Результаты и их обсуждение

Выбор высаливателя и экстрагента при разработке методики пробоподготовки. Решающим критерием при выборе экстрагента и высаливателя, как показано нами ранее [13], является их способность максимально увеличивать инкремент $-CH_2-$ группы в логарифм константы распределения вещества для наиболее полного отделения воды и этилового спирта от остальных компонентов коньячной продукции. В основные модельные системы по оценке инкрементов $-CH_2-$ группы входили этанол и 1-бутанол. В идеале коэффициент распределения этанола должен быть $\ll 1$, а 1-бутанола $\gg 1$.

Ввиду того что гомологическая разность констант распределения с повышением экстрагирующей способности растворителей уменьшается [10], в качестве экстрагента для достижения наибольшего разделения был выбран гексан. Выбор был остановлен на гексане также благодаря его низкой температуре кипения ($68,7^\circ\text{C}$ [10]). При газохроматографическом анализе экстрактов данный растворитель регистрируется в начале хроматограммы и не мешает последующему определению исследуемых компонентов.

Согласно работам [10, 13, 14] наиболее сильным высаливающим действием в отношении спиртов, углеводов, аминов, эфиров обладают K_3PO_4 , K_2CO_3 , KF , KH_2PO_4 , Na_2SO_4 , $(NH_4)_2SO_4$. Вследствие того, что pH коньяков и коньячных спиртов находится на уровне 3н-3,5, а в их состав входят компоненты, неустойчивые в щелочной среде [1-3], то для выявления реального компонентного состава коньячной продукции при экстракционной пробоподготовке в качестве высаливателя выбран сульфат аммония.

Ранее нами была показана зависимость коэффициентов распределения этанола и бутанола, а также инкремента метиленовой группы в логарифм константы распределения от концентрации солей, в том числе и сульфата аммония [13]. Из работы [13] следует, что эффективность разделения спиртов повышается при возрастании концентрации соли в водной фазе.

При изучении распределения этанола и бутанола в системе гексан - водные растворы сульфата аммония нами установлена линейная зависимость между отношением коэффициентов распределения спиртов и концентрацией этанола в водной фазе (табл. 1).

Зависимость коэффициентов распределения спиртов от концентрации этанола в водной фазе

Об. % (EtOH) _{водн}	Концентрации спиртов в органической фазе, моль/л			K(EtOH)	K(BuOH)	K(BuOH) K(EtOH)	I(CH ₂)
	EtOH	BuOH	Сумма				
0,20	0,002	0,006	0,008	0,071	4,8	67	0,91
0,80	0,009	0,006	0,014	0,063	4,3	69	0,92
1,41	0,016	0,006	0,022	0,065	4,3	67	0,91
2,59	0,033	0,006	0,038	0,073	4,3	60	0,89
4,83	0,084	0,006	0,090	0,10	5,0	50	0,85
6,93*	0,174	0,006	0,181	0,14	5,7	39	0,79
8,95*	0,265	0,006	0,271	0,17	4,9	28	0,73

Примечание. * Коэффициенты распределения без учета поправки на частично выпавшую соль (при первых 5 концентрациях этанола соль не выпадала).

В табл. 1 на примере экстракционной системы, состоящей из 40,05 % водного раствора (3,727 моль/л) сульфата аммония, гексана, этанола и бутанола, показано, что при росте концентрации этанола в водной фазе ко-

эффиценты распределения этанола увеличиваются, а коэффициенты распределения бутанола изменяются незначительно. Это приводит к уменьшению значения $K(\text{BuOH})/K(\text{EtOH})$.

Следует отметить, что при экстракции гексаном максимальная концентрация применяемых высаливателей и этанола в водной фазе ограничена образованием третьей этанольной жидкой фазы, резко уменьшающей эффективность разделения спиртов.

Согласно хроматограммам коньяков и коньячных спиртов разных регионов производства и выдержки для успешного количественного анализа их компонентов недостаточно удалить из пробы воду и этанол. Содержащийся в коньячной продукции изоамиловый спирт в концентрации до 2,4 г/л (по российскому ГОСТу [15]) вызывает перегрузку колонки при прямом хромато-масс-спектральном анализе, что не позволяет точно определять его количество. Следовательно, необходимо разбавлять образцы для устранения перегрузки колонки (в данном случае в 5-7 раз). Последнее условие относится лишь к применявшемуся в ходе исследования хромато-масс-спектрометру и приборам, верхняя граница определения изоамилового спирта которых находится ниже его содержания в коньячной продукции.

Снизить концентрацию изоамилового спирта при пробоподготовке можно двумя способами: 1) разбавлением коньячной продукции солевым раствором сульфата аммония и 2) увеличением отношения объемов органической и водной фаз. Из табл. 1 видно, что инкремент метиленовой группы в логарифм константы распределения $I(\text{CH}_2)$ растет с уменьшением концентрации этанола в водно-солевой фазе. Следовательно, снижение концентрации изоамилового спирта с сохранением достаточно высокого $I(\text{CH}_2)$ для максимально полного отделения этанола от более гидрофобных соединений целесообразно проводить по первому способу.

В случае разбавления коньяка в 7 раз и концентрации сульфата аммония в водно-солевой фазе 40 мас. % находим, что при пробоподготовке 1 объем коньяка должен разбавляться 6 объемами насыщенного водного раствора сульфата аммония (43 мас. % при 20 °С [16]). В данном случае концентрация этанола в водно-солевом растворе составит 5,7 об. %. Аналогично рассчитывается соотношение объемов солевого раствора и анализируемого образца при пробоподготовке коньячного спирта.

Методика пробоподготовки коньяка с содержанием этанола 40 об. % (3,3 мас. %). К насыщенному водному раствору сульфата аммония объемом 6 мл добавляется 1 мл коньяка и 7 мл гексана. Полученная экстракционная система помещается в аппарат для встряхивания (экстракцию проводят 3-5 мин при 18±25 °С). Гексановый экстракт анализируют га-зохроматографически.

Методика пробоподготовки коньячного спирта с содержанием этанола 65 об. % (57,15 мас. %). К насыщенному водному раствору сульфата аммония объемом 6 мл добавляется 0,38 мл воды (для предотвращения образования третьей фазы), 0,62 мл коньячного спирта и 7 мл гексана. Полученная экстракционная система помещается в аппарат для встряхивания (условия экстракции аналогичные). Гексановый экстракт анализируют газохроматографически.

При проведении пробоподготовки по данным методикам коэффициенты распределения этанола и бутанола составляют:

$K(\text{EtOH})$	0,12±0,01
$K(\text{BuOH})$	5,3±0,1
$K(\text{BuOH})/K(\text{EtOH})$	45±1

Значения коэффициентов распределения алифатических спиртов с числом атомов углерода больше 7 составляют $>10^3$, сложных эфиров - $>10^4$. Относительное стандартное отклонение при определении площадей пиков соединений на хроматограмме не превышает 5 %.

Приведенные методики представляют собой усовершенствованный вариант применяемых в настоящее время для исследования коньячной продукции методик пробоподготовки [4, 6, 12], заключающихся в использовании более активных растворителей (диэтиловый эфир [6] или смесь диэтилового эфира и гексана [4]) или менее эффективных высаливателей [12], что снижает селективность экстракции.

Хромато-масс-спектральное исследование коньячной продукции.

Методом хромато-масс-спектрометрии проводились исследования 16 образцов коньячной продукции производства Грузии 3-17-летней выдержки. Каждый образец анализировался два раза: с прямым вводом пробы и с разработанной нами предварительной пробоподготовкой.

На основании полученных в ходе исследований данных установлено, что коньячным спиртам и коньякам производства Грузии присуще наличие следующих 20 соединений:

этилпропионат,	1-гексанол,
этилизобутират,	этилоктаноат,
1-пропанол,	фурфурол,
изобутанол,	этилдеcanoат,
изоамилацетат,	этилдодеcanoат,
1-бутанол,	фенилэтанол,
изопентанол,	2-бутанол,
этилгексаноат,	2,2-диэтоксизэтанол,
1,1-диэтоксипропан,	этилгексадеcanoат,
этиллактат,	уксусная кислота.

Перечисленные соединения присутствуют во всех анализированных образцах коньячной продукции, следовательно, их наличие будет свидетельствовать о подлинности образцов. Прямолинейная зависимость содержания какого-либо компонента от выдержки замечена только для фурфурола в коньяках 3-, 4-, 5-, 7-летней выдержки (рис. 1 а) и для 2,2-диэтоксизэтанола для коньячных спиртов (рис. 1 б). Для других соединений зависимость их содержания от выдержки носит более сложный характер.

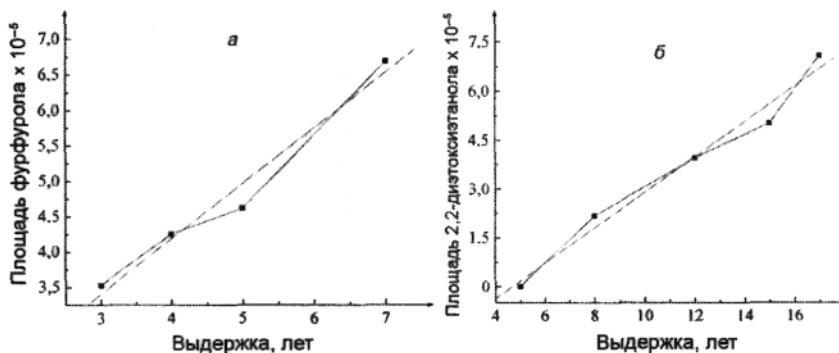


Рис. 1. Зависимости площадей пиков фурфурола (а) и 2,2-диэтоксизэтанола (б) от выдержки коньячной продукции

В целом для исследованной коньячной продукции в процессе выдержки характерно увеличение содержания следующих 15 соединений:

2-бутанол *	1-гексанол **,
1-пропанол **,	2,2-диэтоксизэтанол,
изобутанол,	фурфурол *,
изопентанол,	этилдеcanoат **,
этилдодеcanoат **,	этилоктадец-9(Z)-еноат,
фенилэтанол **,	5-гидроксиметилфурфурол *,
этилтетрадеcanoат,	этиллинолеат.
этилгексадеcanoат,	

Здесь * обозначает, что увеличение содержания соединения наблюдалось только в образцах коньяков, ** - только в образцах коньячных спиртов.

Для бензилового спирта характерно уменьшение его содержания в процессе выдержки.

Подлинность образцов, на основании компонентного состава которых сделаны данные выводы, подтверждена сопроводительными документами и независимой экспертизой Центральной таможенной лаборатории Минской центральной таможни Государственного таможенного комитета Республики Беларусь (ЦТЛ МЦТ ГТК РБ).

Полученные в ходе газохроматографического исследования результаты показали, что площади пиков многих веществ проанализированных образцов коньяков с заявленной выдержкой 12-13 лет на порядок меньше, чем коньяков 3-7-летней выдержки, не говоря уже о более выдержанных образцах. Это касается сложных эфиров, ацеталей и других веществ, содержание которых в коньячной продукции, согласно литературным и полученным нами в ходе проведенных экспериментов данным, должно увеличиваться в процессе выдержки. Содержание высших алифатических спиртов и фенилэтанол также намного ниже, чем в других образцах коньячной продукции. Все это свидетельствует о фальсификации коньяков с заявленным возрастом 12-13 лет (рис.2, 3). Сделанные выводы подтверждены экспертами ЦТЛ МЦТ ГТК РБ.

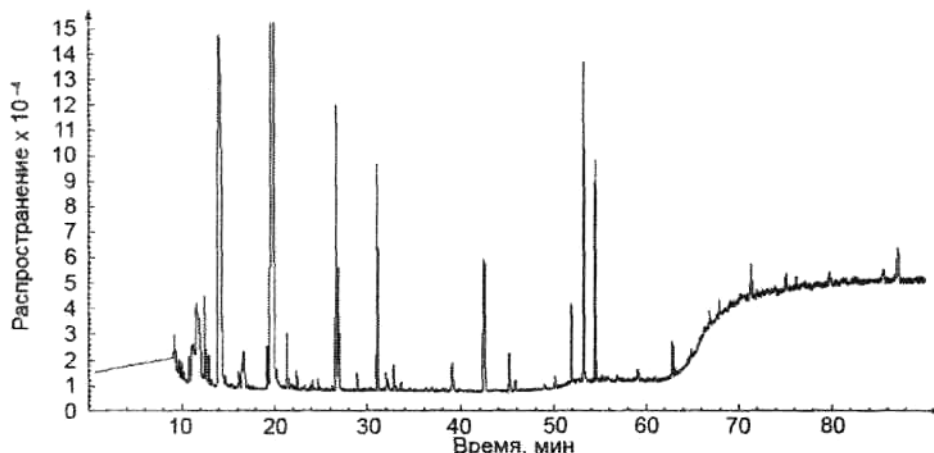


Рис. 2. Хроматограмма коньяка производства Грузии 4-летней выдержки

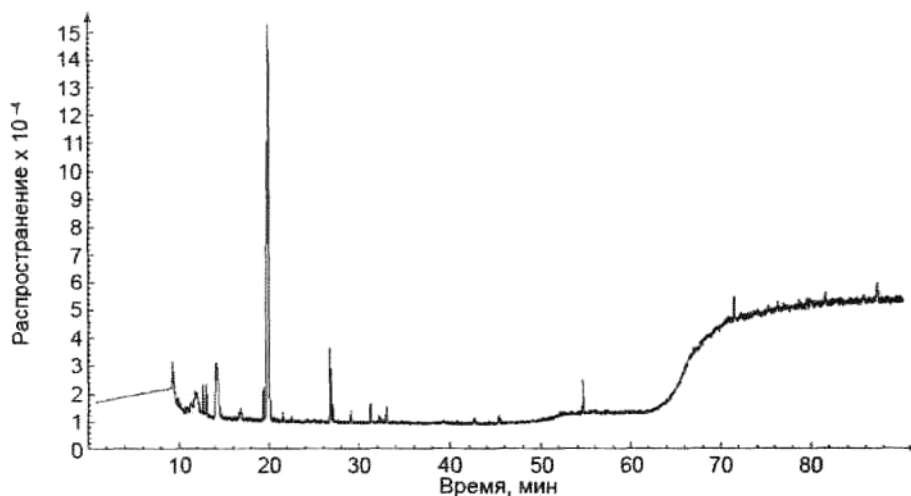


Рис. 3. Хроматограмма фальсифицированного коньяка производства Грузии с заявленным возрастом 13-летней выдержки

Подобные закономерности в изменении компонентного состава наблюдаются также для коньячной продукции других стран-производителей [4]. Источники поступления фальсифицированных коньяков и коньячных спиртов не ограничиваются Грузией, а имеют достаточно широкую географию распространения: Молдова, Азербайджан, Франция и др.

* * *

Таким образом, разработана экстракционная методика пробоподготовки для последующего количественного газохроматографического определения микрокомпонентного состава коньячной продукции. Суть методики заключается в экстракции гексаном определяемых веществ из предварительно разбавленных соевым раствором сульфата аммония образцов коньячной продукции. При такой пробоподготовке вода, гидрофильные, в том числе термонестабильные, вещества, такие как сахара, танины, пептиды и другие, остаются в водно-солевой фазе, а соединения, имеющие более высокие, чем бутанол, константы распределения, переходят в гексановую фазу более чем на 95 %. Это позволяет применять данную методику пробоподготовки для количественного газохроматографического исследования компонентного состава коньячной продукции. В 16 исследованных образцах коньяков и коньячных спиртов производства Грузии выявлены соединения, характерные для подлинной коньячной продукции грузинского производства. Установлено, что в процессе выдержки происходит увеличение концентрации сложных эфиров, фурфурола, 5-гидроксиметилфурфурола, 2,2-диэтоксиэтанола, фенилэтанола и некоторых алифатических спиртов, а содержание бензилового спирта уменьшается. На основании содержания соединений-маркеров подлинности и возраста выявлен ряд фальсифицированных коньяков производства Грузии.

1. Кислицкий Л.Н., Чупраков И.А. Экспертное исследование коньяков. М., 1971.
2. Скурихин И.М. Химия коньячного производства. М., 1968.
3. Мальтадар В.М., Ферман Г. И. Технология коньяка. М., 1975.
4. Савчук С.А., Власов В.Н., Аполлонова С.А. и др. // Журн. аналит. химии. 2001. Т. 56. №3. С. 246.
5. Будников Г.К. // Там же. 1986. Т. 41. С. 1733.
6. Юрченко Р.А., Винарский В.А., Помеленок В.В. и др. // Молекулярно-биологические и физико-химические методы идентификации биологических объектов и материалов различного происхождения. Мн., 2003. С. 160.
7. Заяц М.Ф., Лабус Т.С., Винарский В.А. и др. // Там же. С. 29.
8. Гулиев Р.Р., Начева Т.А., Волкович С. В. и др. // Виноделие и виноградарство. 2001. № 1. С. 17.
9. Ledauphin J., Basset B., Cohen S. et al. // Journal of Food Composition and Analysis. 2006. №19. P. 28.
10. Коренман И.М. Экстракция в анализе органических веществ. М., 1977.
11. Дженнингс В., Рапп А. Подготовка образцов для газохроматографического анализа. М., 1986.
12. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ. М., 1987.
13. Лещев С.М., Заяц М.Ф., Юрченко Р.А. и др. // Вестн. БГУ. Сер. 2. 2007. № 1.С.21.
14. Gorgenyi M., Dewulf J., Van Langenhove H. et al. // Chemosphere. 2006. № 65. P. 802.
15. Государственный стандарт Российской Федерации. Спирты коньячные. Технические условия. ГОСТ Р51145-98.
16. Карякин Ю.В., Ангелов И. И. Чистые химические вещества. 4-е изд., перераб. и доп. М., 1974.

Поступила в редакцию 27.10.06.

Михаил Федорович Заяц - аспирант кафедры аналитической химии. Научный руководитель - С.М. Лещев.

Руслан Александрович Юрченко - ассистент кафедры аналитической химии БГУ, руководитель проекта «AIP SIN».

Сергей Михайлович Лещев - доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии.

Владимир Афанасьевич Винарский - кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии.