



543.544.5.

Определение качественного состава коньячных изделий методом ВЭЖХ

Кочетова М.В., Ларионов О.Г., Ульянова Е.В.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

Аннотация

С использованием полученной ранее базы данных по индексам удерживания и ультрафиолетовым спектрам различных фенольных соединений проведено исследование и сравнение качественного состава разных сортов французских, грузинских, молдавского, украинского и российских коньяков. Определено соотношение сиреневого альдегида к ванилину во всех сортах коньяков. Обнаружены случаи фальсификации некоторых сортов

Введение

В последние десятилетия в геометрической прогрессии увеличивается количество публикаций [1-8], посвященных исследованию природных антиоксидантов, в частности антиоксидантов фенольной и полифенольной природы. Этому способствуют уникальные свойства этих соединений, снижающих последствия стрессовых ситуаций современного мира и ухудшения экологической обстановки для организма человека.

Особенность и сложность исследования полифенольных антиоксидантов заключается в огромном многообразии их активных природных форм. Для успешного их детектирования, например, методом LC-MS, необходимо создание огромной базы данных по молекулярным массам бесчисленного количества природных производных фенольных соединений или, как вариант, детектирование соединений более доступным методом ВЭЖХ-ДАД и создание базы данных по индексам удерживания и спектральным соотношениям при разных длинах волн. В работе [9] нами было проведено исследование и показана возможность создания и применения подобной базы данных для анализа сложных смесей фенольных и полифенольных соединений (на примере экстрактов различных сортов хмеля) в условиях градиентного режима элюирования методом ВЭЖХ.

Известно [10], что коньяк имеет сложный физико-химический состав, причем в число основных его компонентов входит значительное количество фенольных и полифенольных соединений, которые обладают высокой антиоксидантной и антирадикальной активностью. Для получения высококачественного коньяка из коньячного спирта, который представляет собой бесцветную жидкость с острым вкусом и запахом ацетальдегида и сивушных масел, его необходимо выдерживать в

течение многих лет в дубовых бочках. В процессе такой выдержки коньячный спирт приобретает ароматические и вкусовые достоинства, присущие высококачественному коньяку. В зависимости от продолжительности и способов выдержки коньячных спиртов коньяки классифицируют на ординарные, марочные и коллекционные. Согласно законодательству Международной Организации Виноделия и Виноградарства о контролируемых наименованиях по происхождению коньяком называют крепкие спиртные напитки из спирта, получаемого перегонкой виноградных вин, изготавливаемых в департаменте Шаранта во Франции. Напиток, получаемый по аналогичной технологии в России, для экспорта должен называться «бренди». Производством коньяка во Франции занимаются около 200 фирм и производителей. Наиболее крупными из них являются «Энесси», «Мартель», «Камю», «Курвуазье». По французским законам качество коньяка определяется возрастом самого молодого коньяка, использованного в купаже. Другие компоненты могут быть намного старше. Возраст конечного продукта определяется средним арифметическим из возрастов и количеств составляющих купажа. Первые образцы коньяков в России были получены в Грузии в середине 19 века. Во времена СССР вырабатывалось около 90 наименований коньяков. В настоящее время крупнейшими коньячными предприятиями в РФ являются Дербентский и Кизлярский коньячные заводы (Дагестан).

Одним из самых распространенных способов фальсификации коньяка является сокращение сроков выдержки до года и менее. Также распространена замена выдержанных марочных коньяков на ординарные. Подобные замены может выявить опытный эксперт-дегустатор или/и их можно обнаружить инструментальными методами. Возраст коньяков рекомендуется устанавливать по индексу возраста, соотношению сиреневого альдегида и ванилина, содержанию эфиров высших кислот. За индекс возраста принята интенсивность сиреневого альдегида, накопленного при выдержке коньячных спиртов. Чем длительнее выдержка, тем выше этот показатель. Для ординарных коньяков (бренди) область значений индекса возраста от 0 до 1, а для марочных и коллекционных – до 9. Соотношение сиреневый альдегид / ванилин складывается в процессе гидролиза и окисления экстрагированного из бочек лигнина. Его величина в натуральном коньяке (бренди) колеблется в пределах 2 – 4, т.е. в значительной степени преобладает сиреневый альдегид. Фальсификация ароматизацией ванилином (нарушающая эту пропорцию) выявляется с помощью ГХ-МС и ВЭЖХ [11].

В настоящей работе было интересно исследовать качественное содержание фенольных соединений и в частности соотношение сиреневого альдегида к ванилину в разных сортах отечественных и французских коньяков с использованием разработанного нами ранее способа идентификации с помощью индексов удерживания (ИУ) [9]. При исследовании коньяков были подобраны другие условия разделения в ступенчатом градиенте, чем использованные нами ранее для составления базы данных. Таким образом, коньячные изделия были выбраны в качестве модельных объектов для определения возможности вычисления их компонентов с использованием полученной нами ранее базы данных по ИУ и спектральным характеристикам фенольных соединений.

Эксперимент

Материалы

Для работы в качестве стандартных соединений были взяты представители разных групп фенольных соединений: простых производных бензола (Sigma), гидроксibenзойных и гидроксикоричных фенолокислот и альдегидов (препаративно выделенные и очищенные из растительного сырья в Грузинском сельскохозяйственном институте).

Для расчета значений индексов удерживания в качестве стандартов использовали гомологи- алкиларилкетоны – от ацетофенона до гептафенона (Тетра-Элсико, Россия).

В работе были использованы коньяки следующих сортов: Ай-Петри (Украина, Симферополь, 8-летний), Московский (Россия, 4-летний), Кутузов (Россия, 8-летний), Арна (Армения, 3-летний), Солнечный (Молдавия, 5-летний), Варцихе (Грузия, 7-летний), Греми (Грузия, 9-летний), Hennessy V.S. (Франция, 2.5-летний), Remy Martin V.S. (Франция, 4-летний), Remy Martin Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний).

Методы исследования

В работе использовали жидкостный хроматограф Agilent 1100 Series (Agilent Technologies, США) с градиентным насосом Agilent 1100 Series Quaternary Pump с инжектором Agilent 1100 Series Manual Injector с петлей-дозатором объемом 20 мкл, воздушным термостатом Agilent 1100 Series Thermostatted Column Compartment, с диодно-матричным детектором Agilent 1100 Series Diode Array and Multiple Wavelength Detectors и программным обеспечением обработки хроматографических данных Chemstation A.08.03 (Agilent Technologies, США). Хроматографические разделения проводили на колонке (100×2.1) мм с сорбентом Hypersil ODS (3 мкм) с использованием предколонки (20×2.1) мм с сорбентом Hypersil C18 (5 мкм). Пробу вводили стеклянным микрошприцем для ВЭЖХ Microliter Hamilton (Reno, США) объемом 10 мкл. В качестве подвижной фазы применяли элюенты: А – вода, В – ацетонитрил (AcCN), с добавлением в них до pH 3 фосфорной кислоты, режим элюирования градиентный: 0-2 мин – 5% AcCN, 2-25 мин – 5-100% AcCN, 25-32 мин – 100-5% AcCN, 32-37 мин – 5% AcCN, скорость элюента 300 мкл/мин. Колонку термостатировали при 25° С. Длина волны детектирования: 230 нм.

Обсуждение результатов

В выбранных условиях хроматографического разделения были получены хроматограммы разных сортов коньяков. Для наглядности представлены хроматограммы в области времен выхода фенольных соединений, входящих в состав коньяков (рис.1– 10).

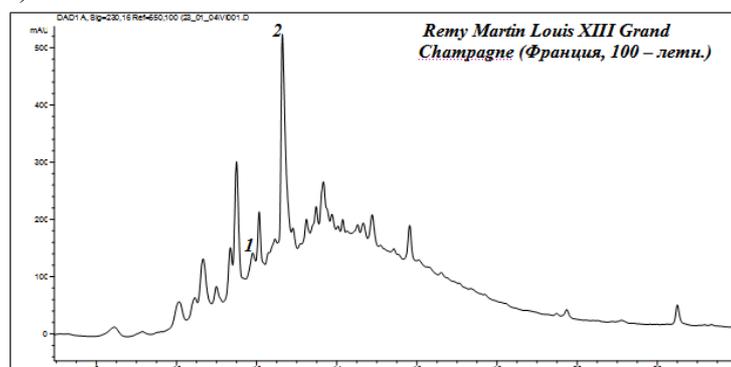


Рис. 1. Хроматограмма французского коньяка Remy Martin Louis XIII Grand Champagne

(1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

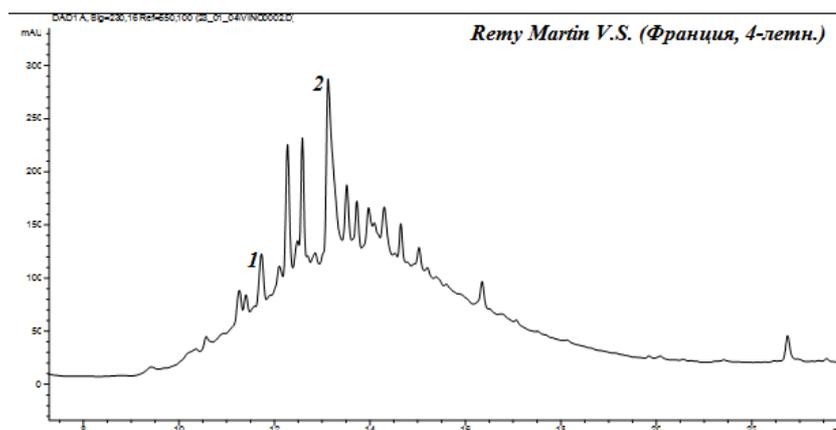


Рис. 2. Хроматограмма французского коньяка Remy Martin V.S. (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида)

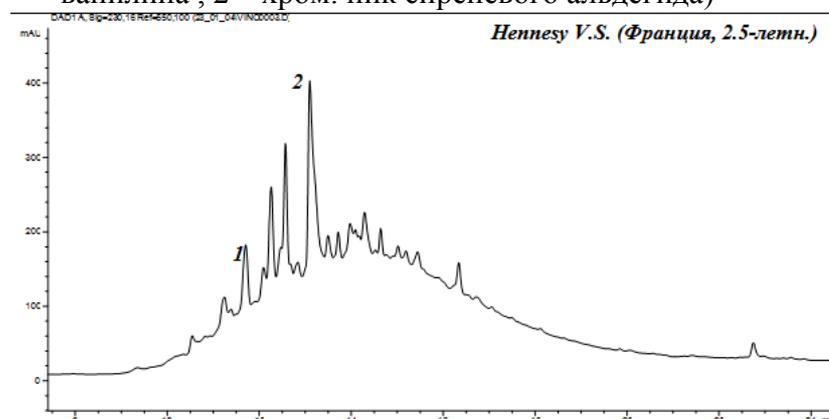


Рис. 3. Хроматограмма французского коньяка Hennessy V.S. (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

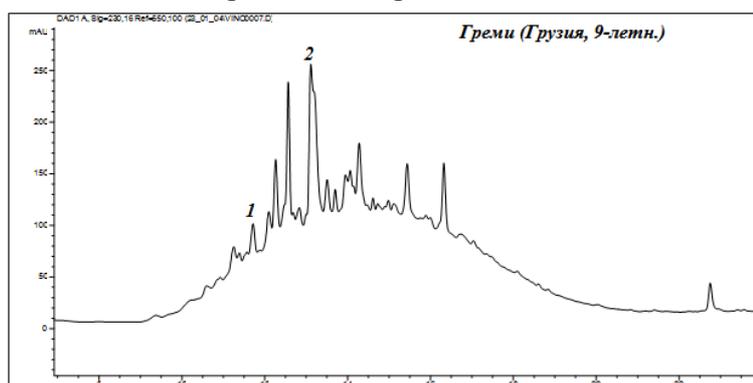


Рис. 4. Хроматограмма грузинского коньяка Греми (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

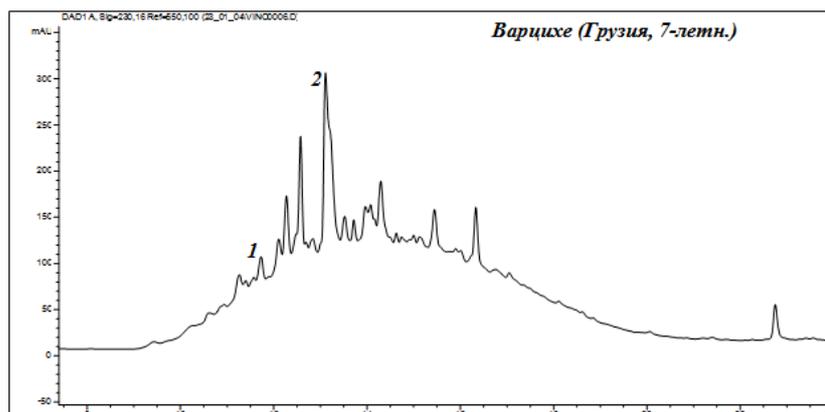


Рис. 5. Хроматограмма грузинского коньяка Варцixe (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида

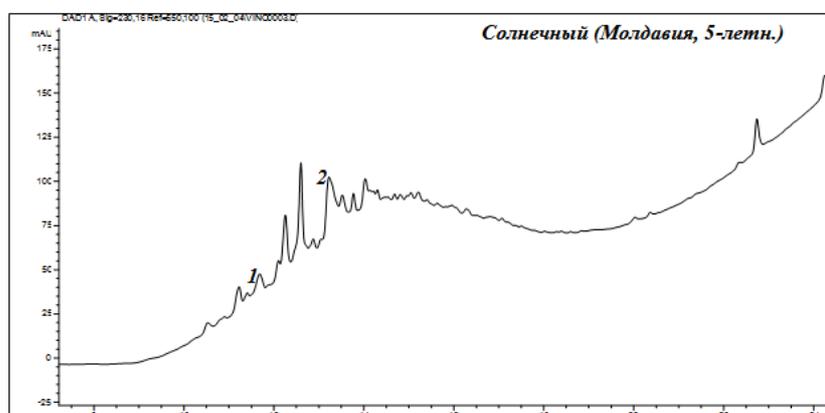


Рис. 6. Хроматограмма молдавского коньяка Солнечный (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида

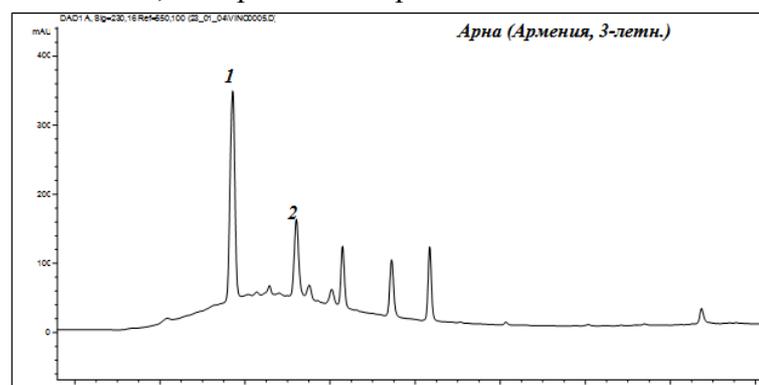


Рис. 7. Хроматограмма армянского коньяка Арна (1 – хром. пик ванилина , 2 – хром. пик сиреневого альдегида

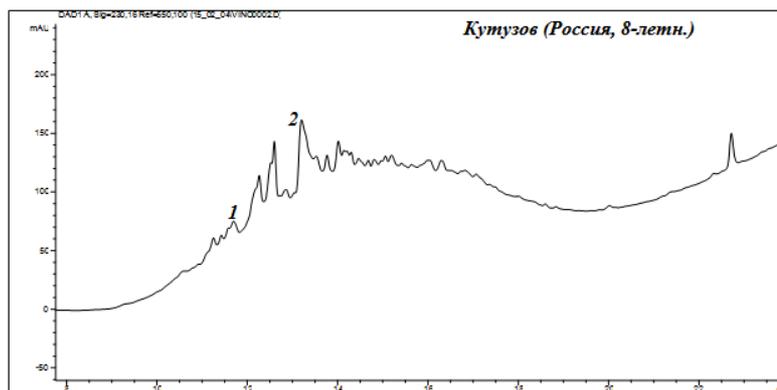


Рис. 8. Хроматограмма российского коньяка Кутузов (1 – хром. пик ванилина, 2 – хром. пик сиреневого альдегида).



Рис. 9. Хроматограмма российского коньяка Московский (1 – хром. пик ванилина, 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

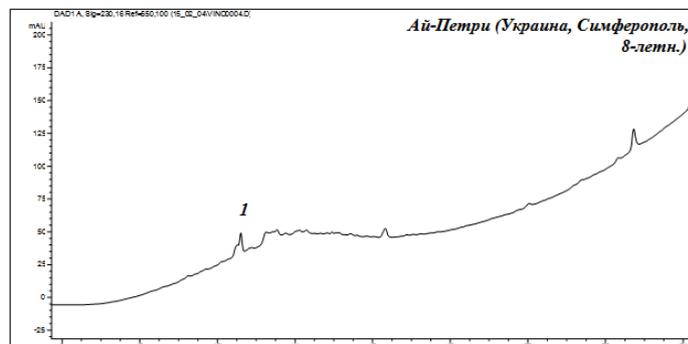


Рис. 10. Хроматограмма украинского коньяка Ай-Петри (1 – хром. пик ванилина, 2 – хром. пик сиреневого альдегида).

Согласно разработанным способам вычисления [9], для ряда фенольных соединений были рассчитаны индексы удерживания (табл. 1). Результаты вычисления индексов удерживания соединений, обнаруженных в разных сортах коньяков, представлены в табл. 2. Сравнение индексов удерживания (табл. 1 и 2) и ультрафиолетовых спектров (табл. 3) фенольных соединений с аналогичными данными для соединений, входящих в состав разных сортов коньяков, показало присутствие во всех исследуемых сортах ванилина (за исключением сорта Ай-Петри), сиреневого альдегида, галловой кислоты. Возможность определения других хроматографических пиков фенольных соединений в разных сортах коньяков была ограничена имеющимся в наличии набором индивидуальных фенольных соединений в качестве образцов сравнения.

Таблица 1. Индексы удерживания (ИУ) ряда фенольных соединений

Фенольные соединения	ИУ	Фенольные соединения	ИУ
Ванилиновая кислота	636	Пропилгалат	762
Кофейная кислота	656	Пирогаллол	785
Сиреневая кислота	658	Кониферилловый спирт	791
Фенол	659	Морин	793
Катехин	660	Галловая кислота	803
Ванилин	696	Протокатеховая кислота	804
Рутин	704	Протокатеховый альдегид	805
Ацетованилон	705	Лютеолин	812
Резвератрол	715	Коричная кислота	826
Цис-феруловая кислота	718	Пеларгонидин	843
Транс-феруловая кислота	726	Нарингин	850
Сиреневый альдегид	733	Коричный спирт	853
Бензойная кислота	745	о-ксилол	860

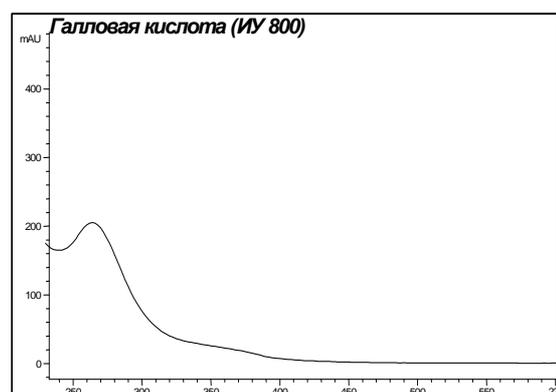
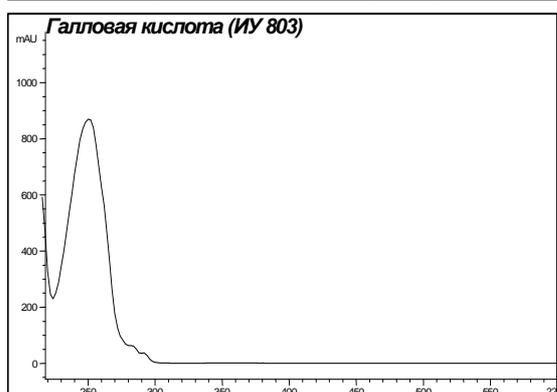
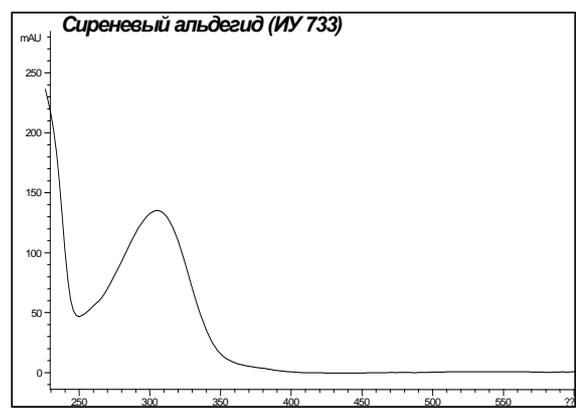
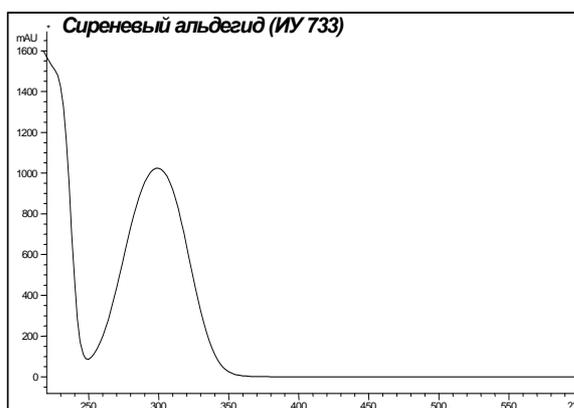
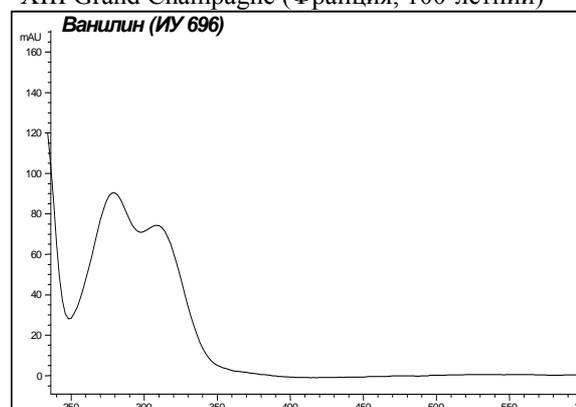
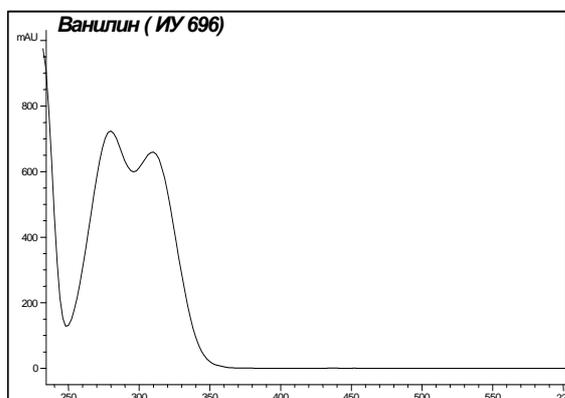
Таблица 2. Индексы удерживания соединений, обнаруженных в разных сортах коньяков

Remy Martin Louis XIII Grand Cham pagne (Фран ция, 100- летн.)	Rem у Mart п V.S. (Фран ция, 4- летн ий)	Hen esy V.S. (Фран ция, 2.5- летни й)	Греми (Грузия, 9- летний)	Варц ихе (Груз ия, 7- летни й)	Солнеч ный (Молда вия, 5- летний)	Арна (Арме ния, 3- летний)	Куруз ов (Росс ия, 8- летни й)	Москов ский (Россия , 4- летний)	Ай-Петри (Украина, Симферо ль, 8- летний)
ИНДЕКСЫ УДЕРЖИВАНИЯ									
625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
646	642	-	-	-	646	633	-	-	-
654	650	650	650	650	-	-	650	-	-
667	-	-	667	667	663	-	-	-	-
679	679	675	675	675	675	-	679	679	679
688	683	-	692	692	683	-	683	-	-
696	696	696	696	696	696	696	696	696	-
713	713	713	713	713	713	-	-	-	708
729	721	721	721	721	721	-	721	-	-
733	733	733	733	733	733	733	733	733	733
-	746	742	742	742	746	-	746	-	-
758	754	754	754	758	758	758	758	763	763
771	771	771	771	771	771	771	771	771	775
779	779	779	779	779	783	-	783	779	-
790	792	792	792	792	792	792	792	792	796
800	803	803	803	803	803	803	803	803	803
810	810	-	-	-	-	-	810	-	-
817	814	814	814	814	817	-	817	-	-
825	828	832	828	828	821	-	828	828	-
-	-	836	836	836	836	-	836	-	-
845	845	845	845	845	845	849	845	845	845
862	853	867	867	871	871	-	867	-	853
871	885	885	885	885	885	885	885	885	885
900	-	905	905	910	915	-	910	-	-
937	926	926	921	926	926	-	926	-	-
959	948	948	-	-	948	-	942	-	-
1070	-	982	982	982	976	982	976	-	-
1083	1096	1096	1012	1018	1012	-	1012	-	-
1180	1110	1110	1103	1110	1103	1110	1103	1103	1103

1285	1301	1301	1301	1309	1309	1301	1301	1301	1301
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Таблица 3. Сравнение УФ-спектров и ИУ для индивидуальных фенольных соединений и соединений, обнаруженных в коньяках, на примере сорта Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний)

УФ – спектры и ИУ индивидуальных фенольных соединений



На основании полученных данных было сделано следующее заключение. Наилучшим качеством обладал Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний) – соотношение составило 3.4. Неплохими по выдержке являлись грузинские коньяки Греми (Грузия, 9-летний) и Варцихе (Грузия, 7-летний) и молдавский Солнечный (Молдавия, 5-летний). Гораздо худшими оказались российские Московский (Россия, 4-летний) и Кутузов (Россия, 8-летний) и французские Remy Martin V.S. (Франция, 4-летний) и Hennessy V.S. (Франция, 2.5-летний). Причем неважное качество последних, вероятно, в данном случае связано с их фальсификацией, а не с

недостатками самих коньяков. В случае Арна (Армения, 3-летний) и Ай-Петри (Украина, Симферополь, 8-летний) обнаружены явные случаи фальсификации.

Таблица 4. Сравнение соотношения сиреневого альдегида и ванилина в разных сортах коньячных изделий

Названия сортов коньячных изделий	Соотношения площадей пиков сиреневого альдегида/ ванилина (в %)	Названия сортов коньячных изделий	Соотношения площадей пиков сиреневого альдегида/ ванилина (в %)
Louis XIII Grand Champagne (Франция, 100-летний)	6179 / 1826 = 3.4	Солнечный (Молдавия, 5-летний)	1122 / 529 = 2.1
Remy Martin V.S. (Франция, 4-летний)	2033 / 1625 = 1.3	Арна (Армения, 3-летний)	783 / 4422 = 0.2
Hennessy V.S. (Франция, 2.5-летний)	2859 / 2399 = 1.2	Кутузов (Россия, 8-летний)	1819 / 1014 = 1.8
Греми (Грузия, 9-летний)	2320 / 1006 = 2.3	Московский (Россия, 4-летний)	1913 / 1166 = 1.6
Варцихе (Грузия, 7-летний)	2488 / 1079 = 2.3	Ай-Петри (Украина, Симферополь, 8-летний)	706 / *

* - В данном сорте коньяка не представлялось возможным вычислить соотношение сиреневого альдегида к ванилину, поскольку не был обнаружен хроматографический пик ванилина.

Заключение

Показана возможность применения полученной нами ранее базы данных по индексам удерживания и спектральным характеристикам фенольных соединений для качественного определения фенольных соединений в коньячных изделиях.

Проведено сравнение разных сортов французских, грузинских, украинского и российских коньяков. Определено соотношение сиреневого альдегида к ванилину и на основании этого выявлены явные случаи фальсификации некоторых сортов.

Список литературы

1. Morrisey P.A., O'Brien K.M. Dietary antioxidants in Health and Disease. Int. Dairy Journal. 1998. V.8. P.463-472.
2. Saija A., Scalese M., Lanza M., Marzullo D., Ronina F., Castelli F. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. Free Rad. Biology & Medicine. 1995. V.19. N.4. P.481-486.

3. Shui G., Leong L.P. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by HPLC. *J. Chromatogr. A*. 2002. V.977. N.1. P.89-96.
4. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganda G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*. 1996. V.20. N.7. P.933-956.
5. Perez-Magarino S., Revilla I., Gonzalez-SanJose M.L., Beltran S. Various applications of LC-MS to the analysis of phenolic compounds. *J. Chromatogr. A*. 1999. V.847. P.75-81.
6. Canali,R., Ambra,R., Stelitano,C., Mattivi,F., Scaccini,C., Virgili,F. A novel model to study the biological effects of red wine at the molecular level. *British Journal of Nutrition*. 2007. V. 97. N. 6 . P. 1053-1058.
7. Shui G., Leong L.P. Analysis of polyphenolic antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 2004. V. 1022. N. 1-2. P. 67-75.
8. Кочетова М.В., Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Определение биологически активных соединений фенольной и полифенольной природы в различных объектах методами хроматографии. *Успехи химии*. 2007. Т. 76. N. 1. С. 88–100.
9. Зенкевич И.Г., Кочетова М.В., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Индексы удерживания как наиболее воспроизводимые хроматографические параметры для характеристики фенольных соединений в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Журн. аналит. химии*. 2005. Т. 60. N. 7. С. 734-746.
10. Скурихин. И.М. Химия коньячного производства. 1968. Пищевая промышленность. Москва. С. 383.
11. Экспертиза напитков. Под общ. ред. проф. Поздняковского. В.М. 1999. Изд. Новосибирского университета. Новосибирск. С. 385.

The investigation of qualytative composition of cognacs by HPLC

Kochetova M.V.¹, Larionov O.G.¹, Ulyanova E.V.¹

¹ – A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of Russian Academy of Sciences, Moscow

The investigation of qualytative composition of different kinds of French cognacs and Georgian, Moldovian, Ukrainian and Russian brandies has been developed using obtained earlier database of retention indexes and ultraviolet spectra of phenolic compounds. The ratio of vaniline to syringic aldehyde has been obtained for all investigated kinds of cognacs and brandies. It has been found out a number of cases of falsification of some kinds of cognacs and brandies.

Ключевые слова: коньячные изделия, ВЭЖХ, сиреневый альдегид, ванилин.