

УДК 543.426; 546.661; 541.49

О. І. Теслюк¹, С. В. Бельтюкова², О. О. Лівенцова³

¹Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, відділ хімії функціональних та неорганічних матеріалів, Люстдорфська дорога, 86, м. Одеса, 65080, Україна; e-mail: oigg.teslyuk@gmail.com

²Одеський національний технологічний університет, кафедра харчової хімії, експертизи та біотехнологій, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039, Україна; e-mail: liventsova.helen@gmail.com

³Одеський обласний базовий медичний фаховий коледж, вул. Пушкінська, 4, м. Одеса, 65026, Україна; e-mail: liventsova.helen@gmail.com

СОРБЦІЙНО-ЛЮМІНЕСЦЕНТНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МАРКЕРІВ ЯКОСТІ ЧАЙНОЇ ПРОДУКЦІЇ

Визначення наявності та кількості домінуючих компонентів фенольної та поліфенольної природи у харчових об'єктах дозволяє дати оцінку якості продукції, що актуально при проведенні харчової експертизи. Вивчено люмінесцентні властивості катехолів, що є маркерами якості чайної продукції. У тонкому шарі сорбенту на пластинах TLC Aluminium oxide 60 та на поверхні Sephadex G-75 йон Tb (III) утворює з катехолами комплекс, що проявляє інтенсивну люмінесценцію. Вивчено вплив концентрації йонів Tb (III), кислотності середовища, поверхнево-активних та донорно-активних речовин на величину люмінесцентного сигналу. Знайдено оптимальні умови комплексоутворення. На підставі проведених досліджень розроблено методику твердофазного люмінесцентного визначення суми катехолів у чайній продукції.

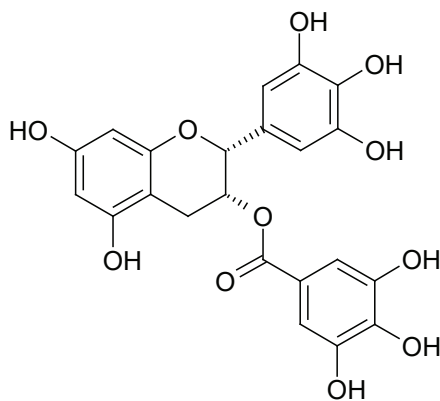
Ключові слова: твердофазна люмінесценція, Тербій, катехол, епігалокатехінгалат.

Критерії якості, які висуваються до харчових об'єктів, що містить природні фенольні та поліфенольні речовини, постійно зростають. Водночас висуваються нові вимоги до методів їх ідентифікації та визначення. Оптимізація існуючих та створення нових методик є пріоритетним завданням щодо аналізу фенольних сполук рослинного походження.

Представниками класу поліфенольних сполук, які містять кілька гідроксильних груп, розташованих в орто-, пара- або мета-положеннях й проявляють найбільшу біологічну активність, є катехоли (Кат) (флаван-3-оли). Катехоли містять у своїй молекулі два асиметричні атоми карбону й у них відсутні у положенні 4 карбонільна або гідроксильна групи. Найпростіший катехол може існувати в шести стереоізомерних формах: у вигляді *l*-катехолу, *d*-катехолу, *d, l*-катехолу, *l*-епікатехолу, *d*-епікатехолу, *d, l*-епікатехолу. Редокс-перетворення катехолів відіграють важливу роль у технології багатьох харчових виробництв, таких як ферментація чаю, виноробство, виготовлення какао [1-3].

Епігалокатехінгалат (EGCG, епігалокатехін-3-галат), складний естер епігалокатехіну та галової кислоти є найпотужнішим з відомих антиоксидантів рослинного походження й найпоширенішим, домінуючим катехолом у чаї [2,4,5]. Епігалокатехінгалат виступає як основний субстрат сировини, в результаті ферментативно-окисних перетворень якого формується якість чайного продукту, перш за все чорного та зеленого чаю.

У чорному чаї міститься близько 9% катехолів. В процесі ферментації вони окиснюються в теафлавін і теарубігін. До складу зеленого чаю входить від 4 до 12 типів катехолів, що становлять до 15–30 % сухого листка. Їх вміст, визначений хроматографічними методами, коливається від 10 мг/г до 120 мг/г (у перерахунку на грам сухого чаю) залежно від сорту та якості чаю. У найбільшій кількості в чаї міститься чотири катехоли: епігалокатехінгалат, епігалокатехін, епікатехін та епікатехін галат. У значно меншій кількості також зустрічаються галокатехін, катехін та галокатехін галат. Визначення загального катехолу, як показника якості чайної продукції проводять за сумою основних катехолів чаю (епігалокатехінгалат, епігалокатехін, епікатехін та епікатехін галат) або кількістю домінантного компонента EGCG [1,3].



EGCG, епігалокатехін-3-галат

Найбільш поширеним методом визначення катехолів є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) з УФ- детекцією [6-11]. Метод дозволяє виявлення широкого спектру катехолів з концентрацією в діапазоні від 2,46 мг/г для катехіну до 80,8 мг/г для EGCG [11]. Для монотекції та визначення суми катехолів застосований капілярний зонний електрофорез, і міцелярна електрокінетична капілярна хроматографія [5, 17]. У всіх випадках для розділення використовували капіляри з плавленого кремнезему без покриття. Також для визначення катехолів застосовують такі фізико-хімічні методи як видима спектрофотометрія [12], газова хроматографія [13, 14], тонкошарова хроматографія та паперова хроматографія [15,16], хемілюмінесценція [19]. Спектрофлуорометричне визначення базується на здатності катехолів у нейтральному середовищі утворювати комплексні сполуки з 1,2-дифенілетилендіаміном у присутності гексаціаноферату (III), які проявляють інтенсивну флуоресценцію [18]. Також запропоновано твердофазне люмінесцентне визначення суми катехолів за власною люмінесценцією поліфенолів, підсиленою йоном Sc(III) в середовищі аніонного ПАВ [20]. Різноманітність та кількість методів, які пропонують для визначення катехолів як додаткового маркера якості та автентичності чайної продукції є підтвердженням актуальності цієї задачі у сучасній харчовій хімії. Але більшість запропонованих методик досить складні у виконанні, потребують довготривалої пробопідготовки та наявності складного спеціального обладнання.

Систематичне вивчення моно- та різнолігандних комплексів йонів лантанідів як потенційно нових аналітичних форм для люмінесцентного визначення біологічно активних речовин поліфенольної природи дозволяє розширити застосування люмінесцентного методу в аналізі харчових об'єктів та контролю їх якості й безпеки харчування, а саме для визначення маркерів якості чаю та чайної продукції.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Спектри люмінесценції розчинів та сорбатів комплексів реєстрували за допомогою спектрофлуориметрів: ІСП-51 із ртутно-кварцовою лампою СВД-120А та Fluorolog FL3-22 «Horiba Jobin Yvon» (Франція) з ксеноновою лампою 450 W в області 300-650 нм. Значення енергії триплетних рівнів органічних лігандів визначали реєстрацією спектрів фосфоресценції їх комплексів з Ітрієм(III) при температурі 77 К.

Хлорид Tb(III) готували розчиненням високочистого оксиду (99. 98%) у хлорводневій кислоті (1:1) з подальшим видаленням її надлишку випарюванням. Концентрацію лантаніду (III) контролювали комплексонометричним титруванням розчином комплексону III (0,01 моль/л) з індикатором арсеназо I у присутності розчину уротропіну 40%-ного. Розчин 1,10-фенантроліну готували розчиненням точної наважки речовини в бідистильованій воді з підкисленням соляною кислотою до pH 5. Як стандарт катехолу (Кат) використовували розчин епігаллокатехінгалату (0,2 мг/мл) та розчин суми катехолів (епігаллокатехінгалат, епігалокатехін, епікатехін та епікатехін галат), які готували розчиненням точної наважки речовин у дистильованій воді. Розчини поверхнево-активних речовин (Брідж-35, Неонол 9-12 та ін. («Sigma-Aldrich»)) ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л) готували розчиненням точних наважок речовин у дистильованій воді.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Різноманітність та велика кількість ізомерів, а також схожість структури всіх катехолів завдяки наявності хромонового ядра, не дозволяє застосовувати спектри поглинання окремих ізомерів як характерну ознаку. Усі катехоли характеризуються наявністю широкої смуги поглинання в області 240-400 нм з максимумами в при 270-280 нм (π - π^* перехід) та 380 нм ($n \rightarrow \pi^*$ перехід) (рис.1). Власна люмінесценція катехолів незначна (рис. 2). Відомо, що катехоли утворюють комплексні сполуки з елементами III групи, які проявляють люмінесцентні властивості [20].

Величина енергії триплетного рівня катехолів (20600-20800 см^{-1}) вище енергії збуджених станів йонів лантанідів: Eu(III) (17300 см^{-1}) та Tb(III) (20500 см^{-1}). Значний енергетичний проміжок між триплетним рівнем ліганду й випромінюючим рівнем 5D_0 йону Eu(III) сприяє збільшенню ступеня деградації енергії збудження і інтенсивність люмінесценції у цьому випадку має низьке значення. У випадку йона Tb(III) енергетичний рівень 5D_4 ближче за значенням енергії триплетного рівня ліганду і, у цьому випадку, можливий більш ефективний перенос енергії збудження без значних безвипромінювальних енергетичних втрат.

При збудженні УФ-світлом з $\lambda_{\text{збуд}} = 365$ нм у присутності Кат спостерігається сенсibilізована люмінесценція йонів Tb(III). Найбільше інтенсивні смуги в спектрі люмінесценції Tb(III), які відповідають переходам $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ ($\lambda = 490$ нм) и $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ ($\lambda = 545$ нм), перекриваються довгохвильовим крилом спектру ліганду, що сприяє перенесенню енергії збудження від ліганда до йона Tb(III).

Інтенсивність люмінесценції комплексу значно зростає у шарі сорбенту. Було досліджено люмінесцентні властивості комплексу Tb(III) – Кат на сорбентах різного типу (табл. 1). Найбільше значення інтенсивності люмінесцентного сигналу

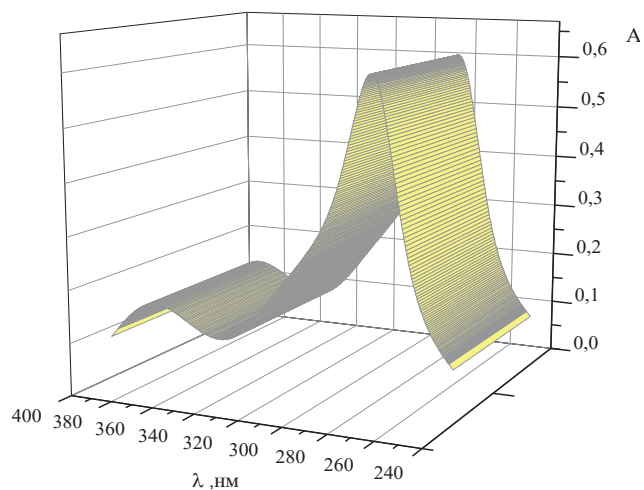


Рис. 1. Спектр поглинання розчину суми катехолів; $C_{\text{катех}} = 0,02$ г/л, $l = 1$ см.

Fig. 1. Absorption spectrum of a solution of sum of catechols; $C_{\text{catech}} = 0,02$ g/l, $l = 1$ cm.

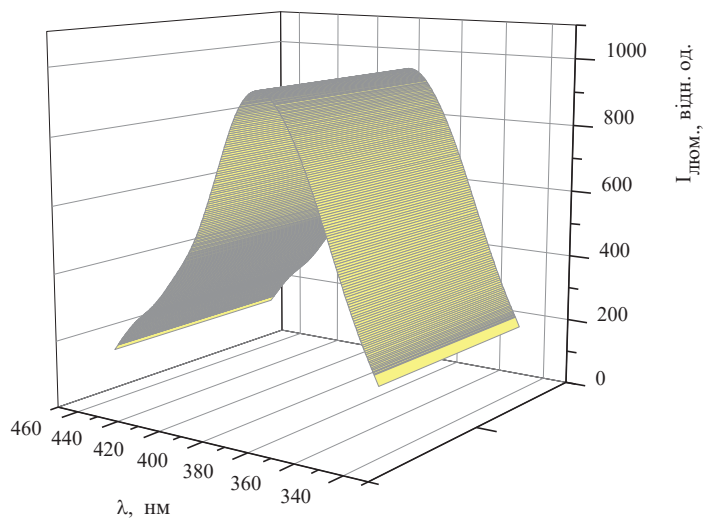


Рис. 2. Спектр люмінесценції розчину суми катехолів; $C_{\text{катех}} = 0,02$ г/л, $\lambda_{\text{збуд}} = 365$ нм;

Fig. 2. Luminescence emission spectrum of a solution of the sum of catechols;
 $C_{\text{catech}} = 0.02$ g/l, $\lambda_{\text{ex}} = 365$ nm;

Таблиця 1

**Інтенсивність люмінесценції сорбатів комплексу Tb(III) з катехолом
на сорбентах різного типу**

Table 1

**Luminescence intensity of sorbates of the Tb(III) complex with catechol
on different types sorbents**

Сорбент	I _{люм}	
	відн.од	%
Цеоліт Ca A	150	15
Цеоліт Na A	200	20
Silicagel Merk L100/160	100	10
Silicagel Merk L100/400	80	8
Алюмінію фосфат	410	41
Ксерогель немодифікований	550	55
Calflo E	510	51
TLC Aluminium oxide 60	990	99
Сефадекс (sefadex) G-50	750	75
Сефадекс (sefadex) G-75	1000	100

було досягнуто на пластинках TLC Aluminium oxide 60 та сорбенті Sefadex G-75, які були використані як тверда матриця.

У спектрі люмінесценції сорбату комплексу (рис.3) спостерігаються смуги, що відповідають енергетичним переходам йона Tb (III): $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ (487,5 нм), $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ (544,25 нм), $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$ (585 нм), $^5D_4 \rightarrow ^7F_3$ (620 нм). Найбільш інтенсивною в спектрі є смуга, що відповідає НДЧ переходу $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$.

Було визначено оптимальні умови комплексоутворення Tb (III) з Кат (як епігалокатехінгалатом так і сумою домінантних катехолів, що містить епігалокатехінгалат, епігалокатехін, епікатехін та епікатехін галат) у фазі сорбенту. Сорбція комплексів Tb (III) з Кат на поверхні Sephadex G-75 та пластинках TLC Aluminium oxide 60 відбувається при рН від 3 до 8 з максимумом люмінесценції при рН=5,4. Для створення оптимального значення рН застосовували ацетатний буферний розчин.

Інтенсивність люмінесценції сорбатів залежить від концентрації Tb (III) у розчині, з якого ведеться сорбція. Оптимальний результат досягається при використанні Tb (III) концентрацією $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Методом обмеженого логарифмування встановлено утворення на поверхні сорбенту координаційно ненасичених сполук складу Ln:Lig=1:2. Як ліганд використовували домінантний катехол EGCG.

Для оптимізації умов комплексоутворення досліджено вплив донорно – активних речовин, які можуть виступати як другий ліганд з утворенням різнолігандних

комплексних сполук, на люмінесцентні властивості сорбатів. Політопні координаційні ліганди викликають зростання люмінесцентного сигналу різного ступеня. Так гідрофобні монодентатні ліганди (ТОФО та ТФФО) гідрофобізують комплекс Tb (III) з катехолом та захищають люмінесценцію від дезактивуючого впливу молекул води. Це викликає незначне зростання інтенсивності люмінесценції. Найбільший вплив на люмінесцентні властивості сорбатів має 1,10-фенантролін, хромофорний бідентатний хелатоутворюючий ліганд. Інтенсивність люмінесценції при цьому зростає у 30 раз.

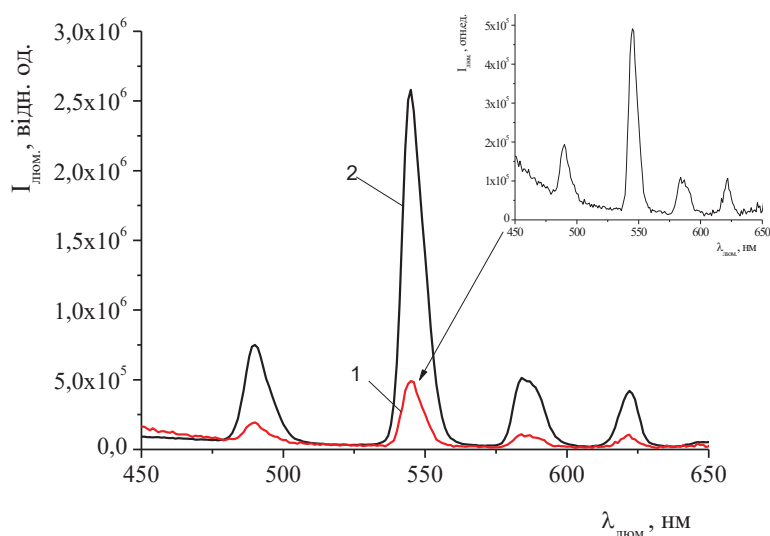


Рис. 3. Спектри люмінесценції комплексу Tb (III) з катехолом у розчині (1) та на сорбенті Sefadex G-75(2); $\lambda_{\text{збуд}}=365$ нм; $C_{\text{Tb(III)}}=1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Fig. 3. Luminescence emission spectrum of the Tb(III) complex with catechol in solution (1) and on the Sefadex G-75 sorbent (2); $\lambda_{\text{ex}}=365$ nm; $C_{\text{Tb(III)}}=1 \cdot 10^{-3}$ mol/l.

У спектрі люмінесценції сорбату комплексу Tb (III) з Кат (EGCG) у присутності Фен спостерігається розщеплення найбільше інтенсивної смуги Tb (III), яка відповідає надчутливому переходу $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ з максимумом при 545 нм (рис. 4). Цей факт підтверджує зміну симетрії комплексу, яка відбувається завдяки входженню молекули Фен у внутрішню координаційну сферу з утворенням різнолігандного комплексу. Слід зазначити, що у присутності ТОФО або ТФФО не спостерігається змін у характері спектру люмінесценції комплексу, що підтверджує гідрофобний вплив цих лігандів.

Значне зростання інтенсивності люмінесценції у присутності Фен відбувається не тільки в результаті витіснення молекул води з внутрішньої сфери комплексу. 1,10-Фенантролін, завдяки наявності хромофорних груп, виступає у ролі «фотоантени» та може приймати участь у процесах передачі енергії збудження з триплетних рівнів лігандів на резонансний рівень йона тербія. Величина енергії

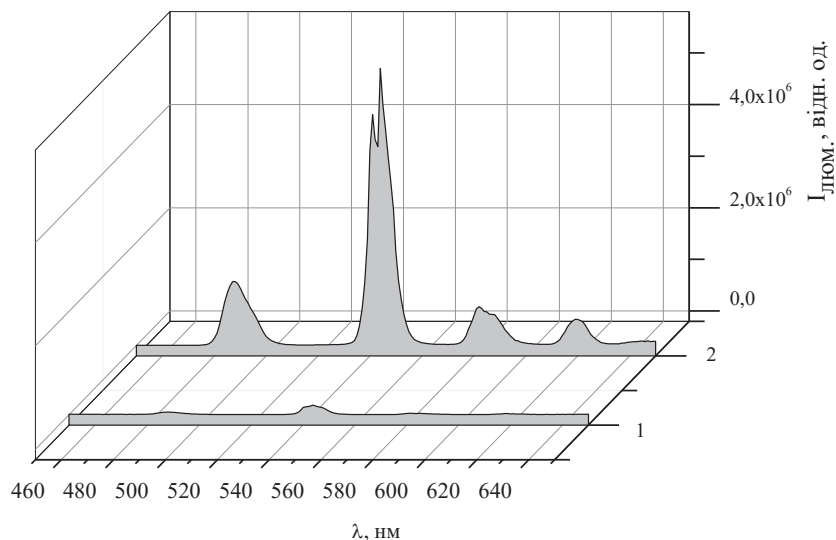


Рис. 4. Спектр люмінесценції сорбату комплексу Tb (III) з Кат (1) та сорбату комплексу Tb (III) з Кат присутності Фен (2); $C_{\text{Tb(III)}} = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $C_{\text{катех}} = 0,02$ г/л, сорбент TLC Aluminium oxide 60.

Fig. 4. Luminescence emission spectrum of the sorbate Tb(III) complex with Cat (1) and the sorbate Tb(III) complex with Cat in the presence of Phen (2); $C_{\text{Tb(III)}} = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l, $S_{\text{catech}} = 0,02$ g/l, sorbent TLC Aluminium oxide 60.

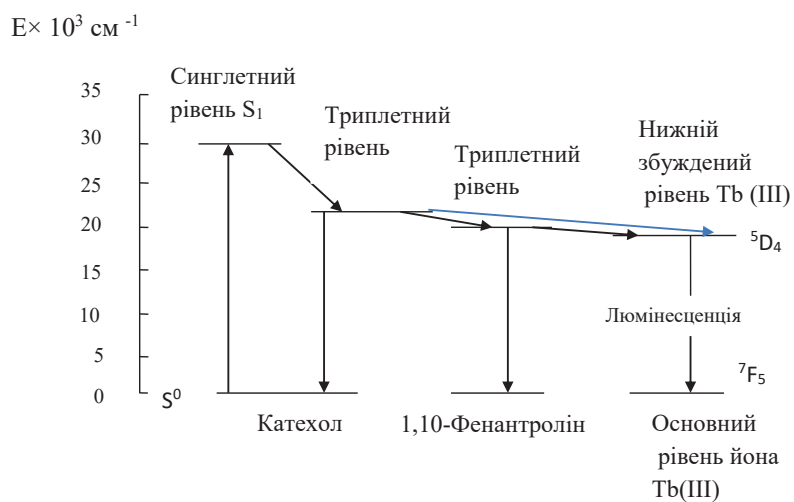


Рис. 5. Схема процесу передачі енергії збудження в різнолігандному комплексі Tb (III) – Кат – Фен;

Fig. 5. Scheme of the excitation energy transfer process in the multiligand complex Tb(III) – Cat – Phen;

триплетного рівня Фен (20650 см^{-1}) вище енергії випромінювального рівня йона Tb(III) (20500 см^{-1}). При утворенні різнолігандного комплексу Tb(III) – Кат – Фен досягається значне збільшення інтенсивності люмінесцентного сигналу, що може бути пов'язане з міжмолекулярним перенесенням енергії збудження від катехолу до Фен і потім до йону лантаніду. В результаті знижується ступінь безвипромінювальних втрат енергії збудження. Схематично процес передачі енергії збудження можна подати так (рис. 5). Методом обмеженого логарифмування знайдено, що у присутності Фен утворюється різнолігандний комплекс складу Tb(III) : Кат : Фен = 1:2:1.

Ще одним фактором, який впливає на інтенсивність люмінесценції комплексів, є солюбілізація хелатів у нанорозмірному обсязі організованої системи – міцелів поверхнево-активних речовин. Солюбілізація комплексів у рідких наносистемах сприяє їх дегідратації, зміни протолітичних, таутомерних властивостей, збільшення стійкості комплексів та ефективності перенесення енергії та заряду. Досліджено вплив ПАР різних типів на інтенсивність люмінесцентного сигналу сорбату РЛК Tb(III) : Кат : Фен. Значне збільшення інтенсивності люмінесценції сорбатів викликають аніонні та неіоногенні ПАР. Зростання інтенсивності люмінесценції може бути пов'язане з декількома причинами: солюбілізацією та дегідратацією координаційно ненасичених комплексів у середовищі міцел ПАР. Видалення молекул води з найближчого оточення йона Tb(III) сприяє дегідратації комплексу та зниженню безвипромінювальних втрат енергії збудження, що й обумовлює більш високу інтенсивність люмінесценції.

Оптимальна концентрація гексадецилсульфату (ГДС) натрію (5×10^{-4} моль/л) нижче критичної концентрації міцелоутворення (1×10^{-3} моль/л), тобто взаємодія відбувається у передміцелярних асоціатах. Аналогічна ситуація спостерігається і для інших аніонних ПАР. Зміна спектральних характеристик комплексів залежить від зміни його симетрії та гідрофобних взаємодій, характер яких визначається передусім довжиною гідрофобного радикала АПАР. Зі збільшенням числа вуглеводневих атомів у молекулі АПАР спостерігається зростання $I_{\text{люм}}$ сорбату комплексу Tb з Кат та Фен.

Найбільше зростання інтенсивності люмінесценції сорбату комплексу спостерігається у присутності неіоногенного ПАР Твін – 80. У цьому випадку НПАР не має заряду і комплексна сполука, вірогідно, фіксується на міцелах ПАР за рахунок поверхневої солюбілізації. Внаслідок цього знижується ступінь безвипромінювальної дезактивації в комплексі за рахунок підвищення жорсткості його структури та спостерігається збільшення люмінесцентного сигналу. Зниження $I_{\text{люм}}$ сорбатів комплексів, отриманих з розчинів у присутності катіонних ПАР, може бути пов'язано з солюбілізацією комплексів у розчині та зменшенням за рахунок цього ступеня їх сорбції.

Люмінесцентні властивості сорбатів комплексу Tb(III) – Кат – Фен залежать від типу розчинника у розчині, з якого ведеться сорбція. Досліджено вплив розчинників (70% об.) з різними донорно-акцепторними властивостями (табл. 2).

При використанні сорбенту Sephadex G-75 як твердої матриці, оптимальним є процес сорбції з водних розчинів, що може пояснюватися механізмом сорбції на цьому типі сорбентів. Сорбенти декстранового типу утворюють у водному середовищі гелі різного ступеня набухання. Декстрини широко використовуються в

гель-проникаючої афінної хроматографії, яка заснована на різній здатності молекул певного розміру проникати в пори неіоногенного гелю, який є нерухомою фазою. Очевидно, введення у розчин розчинників різної природи зменшує набухання сефадексу, що впливає на ступінь сорбції комплексів і, як наслідок, $I_{\text{люм}}$ сорбатів зменшується.

Таблиця 2

Вплив розчинників на інтенсивність люмінесценції сорбатів
комплексу Tb(III) – Кат

Table 2

Effect of solvents on the luminescence intensity of sorbates Tb(III) complex with Cat

Розчинник	$\epsilon_{\text{дл}}$	$I_{\text{люм.}}$ сорбата комплексу, %	
		Sephadex G-75	TLC Aluminium oxide 60
Вода	80	100	54
Диметилсульфоксид	48,9	15	10
Ацетонітрил	37,5	22	20
Диметилформамід	36,7	14	12
Метанол	32,6	42	80
Етанол	24,3	51	100
Пропанол	18	52	65
Етилацетат	6,0	24	36
Діоксан	2,2	10	15

При використанні твердої фази TLC Aluminium oxide 60 оптимальним є використання етанольних розчинів, що сприяє дегідратації комплексів та їх сольватації органічними розчинниками.

Інтенсивність люмінесценції сорбатів Tb(III) – Кат – Фен у середовищі Твін – 80 залежить від часу сорбції та часу і температури висушування. Оптимальний час сорбції складає 15 хвилин. Зі збільшенням часу сорбції $I_{\text{люм}}$ сорбатів не змінюється. Вивчення впливу температури та часу висушування сорбатів показало, що максимальна інтенсивність люмінесценції досягається при висушуванні сорбатів протягом 45 хвилин при температурі 80 ° при використанні твердої матриці Sephadex G-75 та 10 хвилин при температурі 80-100 С у випадку TLC Aluminium oxide 60. Повнота вилучення комплексу Tb(III) – Кат – Фен сорбентом Sephadex G-75 та TLC Aluminium oxide 60 із розчину становить 96 % та 97 % відповідно. Для катехолу EGCG і суми домінантних катехолів оптимальні умови комплексоутворення є ідентичними. На підставі проведених досліджень можна зробити висновок, що сорбати комплексів Tb(III) – Кат – Фен в середовищі Твін-80 можуть бути використані як аналітичні форми при сорбційно-люмінесцентному визначенні катехолу за кількістю EGCG або за сумою домінантних катехолів. В оптимальних умовах $I_{\text{люм}}$ йонів Tb(III) у різнолігандному комплексі Tb(III) – Кат – Фен у тонкому шарі сорбенту TLC Aluminium oxide 60 та сорбатах комплексу на Sephadex G-75 пропорційна вмісту катехолу у діапазоні концентрацій 2 – 200 мкг/мл.

Сорбційно-люмінесцентне визначення катехолів у листі чаю

Методика сорбційно-люмінесцентного визначення катехолів у листі чаю заснована на реєстрації інтенсивності люмінесценції аналітичних форм – сорбатів комплексів Tb(III) – катехол – Фен у середовищі Твін-80. Був визначений сумарний вміст катехолів у чаї після заварювання протягом 5–60 хв. Визначено, що загальний вміст катехолів зростає у часі і є максимальним після 20 хв екстракції.

Приготування екстракту чаю.

Попередньо подрібнену наважку чаю 2,0 г, взятої з середньої проби, поміщали в колбу місткістю 200 мл, додавали 100 мл киплячої дистильованої води та ставили на водяну баню. Екстракцію проводили протягом 20 хвилин. Розчин відфільтровували на фільтрі «синя стрічка». Фільтрат переносили в мірну колбу місткістю 200 мл, охолоджували і доводили до мітки дистильованою водою.

Приготування стандартного розчину епігалокатехінгалату (EGCG)

У якості еталону використовували домінантний катехол у складі чаю епігалокатехінгалат. Стандартний розчин епігалокатехінгалату готували наступним чином: наважку 0,1000 г EGCG вміщали у колбу об'ємом 100 мл та розчиняли у 10 мл дистильованої води. Розчин перемішували та доводили об'єм тим же розчинником до мітки.

Методика визначення

Наважку Sephadex G-75 100 мг, попередньо оброблену 1 мл водного розчину хлориду тербію (III) (1×10^{-3} моль/л), поміщали у пробірку, перемішували протягом 4-5 хвилин до гелеподібного стану. Потім додавали 1 мл водного екстракту чаю, 1 мл (1×10^{-3} моль/л) розчину 1,10-фенантроліну, 1 мл розчину Твін – 80 (5×10^{-4} моль/л) та 0,5 мл ацетатного буферного розчину з рН=5,2, доводили загальний об'єм до 5 мл дистильованою водою і перемішували в протягом 15 хвилин. Сорбент відфільтровували на фільтрі «синя стрічка» та висушували протягом 45 хвилин при 80-100°C. Далі розтирали до порошкоподібного стану і реєстрували інтенсивність люмінесценції сорбату комплексу при $\lambda_{\text{випр}}=545\text{нм}$ ($\lambda_{\text{зб}}=365\text{нм}$). При застосуванні твердої матриці TLC Aluminium oxide 60, на пластинку послідовно наносили всі реагенти, як описано вище. Висушування проводили протягом 10 хвилин при температурі 80-100 С. Люмінесценцію реєстрували при $\lambda_{\text{випр}}=545\text{нм}$ ($\lambda_{\text{зб}}=365\text{нм}$).

При тест-визначенні інтенсивність люмінесценції проби порівнювали з інтенсивністю люмінесценції стандартних зразків, що містять різну кількість катехолу (1-250) мкг/мл та підготовлених так, як описано вище. Висновки про вміст катехолу у зразках робили на підставі порівняльної оцінки інтенсивності люмінесценції.

Кількісне визначення Кат проводили за градувальним графіком, який будували за стандартними зразками з різним вмістом катехолу і підготовленими як описано вище.

Побудова градувального графіка.

100 мг модифікованого сорбенту Sephadex G-75 поміщали в пробірку, додавали 1 мл стандартного розчину катехолу – від 1 мкг/мл до 250 мкг/мл, потім додавали реагенти, як описано вище. На підставі отриманих даних будували градувальний графік. Визначено вміст суми катехолів у зразках різних сортів чаю. Отримані результати представлені у перерахунку на масу сухого чаю (табл. 3).

Таблиця 3

Результати визначення суми катехолів у зразках різних сортів чаю, $n=5$; $P=0,95$

Table 3

Results of determination of the sum of catechols in samples of different tea varieties, $n=5$; $P=0.95$

№	Зразок чаю	Знайдено катехолу, мг/г сухого чаю	Sr
1	Moya Banha. Органічний зелений чай, листовий, Японія	123,6 $\pm$ 3,2	0,021
2	Gun Powder, Чай зелений листовий, Китай	105,2 $\pm$ 4,3	0,033
3	Sherlock Secrets «Pure Green», зелений крупнолистовий чай, Китай	95,7 $\pm$ 4,1	0,035
4	Basilur Зелена долина, зелений чай, Індія, Цейлонська колекція	75,8 $\pm$ 4,2	0,045
5	Tea Moments «Gun Powder» зелений листовий чай, Китай	127,3 $\pm$ 2,3	0,015
6	Espako, чай зелений крупнолистовий плантаційний ОРА, Індія	85,6 $\pm$ 1,1	0,038
7	«Ahmad Tea», Green Tea, зелений чай, Цейлон	38,5 $\pm$ 1,9	0,041
8	«Ahmad Tea», Classic Black Tea чорний чай, Цейлон	24,6 $\pm$ 1,5	0,052
9	Meri Green Tea зелений байховий, сорт Ассам, Індія	91,4 $\pm$ 4,6	0,041
10	Meri Tea, середньолистовий чорний, сорт Ассам, Індія	23,2 $\pm$ 1,8	0,063
11	Чай Чорний «Імператор», Шрі Ланка	16,5 $\pm$ 1,2	0,061
12	Dac San Thai Nguyen, Зелений чай, В'єтнам	18,8 $\pm$ 1,6	0,072
13	Twining Selection Green Tea, зелений чай, UK	105,2 $\pm$ 2,8	0,022

При $n=5$ та $P = 0,95$ величина відносного стандартного відхилення (Sr) становить 1,5-7,2. Відтворюванність результатів визначення катехолу у чаї перевірені методом «введено-знайдено» (табл.4).

Як досліджуваний зразок використали Sherlock Secrets «Pure Green» зелений крупнолистовий чай (Китай).

Таким чином, найбільший вміст катехолу має зелений чай країн виробництва Китай та Японія (127,3-105,2 мг/г сухого чаю).

Таблиця 4

Результати визначення катехолу у чаї методом «введено-знайдено» (мг/г) ($n=5$, $P = 0,95$)

Table 4

Results of catechol determination in tea by the "added-found" method (mg/g) ($n=5$, $P = 0.95$)

Введено	Знайдено	Sr
-	95,7 $\pm$ 4,1	0,035
20	116,3 $\pm$ 3,7	0,026
40	135,4 $\pm$ 3,5	0,021

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Dalluge Joseph J., Nelson Bryant C.* Determination of tea catechins. // J. Chromatogr. A. – 2000. – Vol. 881, N 1 – 2. – P. 411–424. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00062-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00062-5)
2. *Senanayake S.P., Namal J.* Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. // J. Funct. Foods. – 2013. – Vol. 5, N 3. – P. 1-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.011>
3. *Ananingsih V. K., Sharma A., Zhou W.* Green tea catechins during food processing and storage: a review on stability and detection. // Food Res. Int. – 2013. – Vol. 50, N 2. – P. 469–479. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.004>
4. *Барабой В.А.* Катехины чайного растения: структура, активность, применение. // Біотехнол. – 2008. – Т. 1, № 3. – С. 25-36.
5. *Dalluge J.J., Nelson B.C.* Determination of tea catechins // J. Chromatogr. A. – 2000. – Vol. 881, N 1-2. – P. 411-24. [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)00062-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673(00)00062-5)
6. *Bronner W.E., Beecher G.R.* Method for determining the content of catechins in tea infusions by high-performance liquid chromatography. // J. Chromatogr. A. – 1998. – Vol. 805, N 1-2. – P. 137–142. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00040-5)
7. *Maslov O.Yu., Komisarenko M.A., Kolisnyk Yu.S., Kostina T.A.* Determination of catechins in green tea leaves by HPLC compared to spectrophotometry. // J. Org. Pharm. Chem. – 2021. – Vol. 19, N 3. – P. 137-142. <https://doi.org/10.24959/ophcj.21.238177>
8. *Fernandez P.L., Martin M.J., Gonzalez A.G., Pablos F.* HPLC determination of catechins and caffeine in tea. Differentiation of green, black and instant teas. // Analyst. – 2000. – Vol. 125, N 3. – P. 421-425. <http://dx.doi.org/10.1039/a909219f>
9. *Wangkarn S., Grudpan K., Khanongnuch Ch., Pattananandecha Th., Apichai S., Saenjum C.* Development of HPLC Method for Catechins and Related Compounds Determination and Standardization in Miang (Traditional Lanna Fermented Tea Leaf in Northern Thailand) // Mol. – 2021. – Vol. 26, N 19. – An 6052. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26196052>
10. *Wang H., Provan G., Helliwell K.* HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors. // Food Chem. – 2003. – Vol. 81, N 2. – P. 307–312. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00510-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00510-1)
11. *Zuo Y., Chen H., Deng Y.* Simultaneous Determination of Catechins, Caffeine and Gallic Acids in Green, Oolong, Black and Pu-erh Teas using HPLC with a Photodiode Array Detector. // Talanta. – 2002. – Vol. 57, N 2. – P. 307–316. [http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00030-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00030-9)
12. *Atomssa T., Gholap A.* Characterization and determination of catechins in green tea leaves using UV-visible spectrometer. // J. Eng. Technol. Res. – 2015. – Vol. 7, N 1. – P. 22-31. <http://dx.doi.org/10.5897/JETR2014.0527>
13. *Pierce A., Graham H., Glassner S., Madlin H., Gonzalez J.G.* Analysis of tea flavanols by gas chromatography of their trimethylsilyl derivatives. // Anal. Chem. – 1969. – Vol. 41, N 2. – P. 298-302. <https://doi.org/10.1021/ac60271a019>
14. *Luthria D.L., Jones A.D., Donovan J.L., Waterhouse A.L.* GC-MS determination of catechin and epicatechin levels in human plasma. // J. High Resolut. Chromatogr. – 1997. – Vol. 20, N 11. – P. 621–623. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240201111>
15. *Singh H., Ravindranath S., Singh C.* Analysis of tea shoot catechins: spectrophotometric quantitation and selective visualization on two-dimensional paper chromatograms using diazotized sulfanilamide. // J. Agric. Food Chem. – 1999. – Vol. 47, N 3. – P. 1041-1045. <https://doi.org/10.1021/jf9807263>
16. *Бельтюкова С.В., Теслюк О.И., Ливенцова Е.О.* Применение метода тонкослойной хроматографии для люминесцентного определения галловой кислоты в винах и зеленом чае // Вісник ОНУ. Хімія. – 2003. – Т. 8, № 8. – С. 220 – 225.
17. *Kotani A., Takahashi K., Hanamata H., Kojima S., Kusu F.* Attomole catechins determination by capillary liquid chromatography with electrochemical detection // Anal. Sci. – 2007. – Vol. 23, N 2. – P. 157–163. <https://doi.org/10.2116/analsci.23.157>
18. *Agoaka H., Toyoshima S., Akeda K.* Spectrofluorometric Determination of Catechins with 1,2-Diphenylethylenediamine. // Anal. Sci. – 2002. – Vol. 18, N 8. – P. 951-953. <https://doi.org/10.2116/analsci.18.951>
19. *Nakagawa K., Okuda S., Miyazawa T.* Dose-dependent incorporation of tea catechins, (-)-epigallocatechin-3-gallate and (-)-epigallocatechin, into human plasma. // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 1997. – Vol. 61, № 12. – P. 1981-1985. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.1981>
20. *Бельтюкова С.В., Степанова А.А., Теслюк О.И.* Применение твердофазной спектрометрии для определения антиоксидантов. Saarbrücken, Deutschland: Palmarium Academic Publishing. 2015. 184 с.

Стаття надійшла до редакції 27.11.2024

O. I. Teslyuk¹, S. V. Beltyukova², O. O. Liventsova³

¹ A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Department of Analytical Chemistry and Physical Chemistry of Coordination Compounds, 86 Liustdorska Rd, Odesa, 65080, Ukraine, e-mail: oigg.teslyuk@gmail.com

² Odesa National University of Technology, Department of Food Chemistry and Expertise, 112 Kanatna St, Odesa, 65039, Ukraine, e-mail: liventsova.helen@gmail.com

³ Odesa Regional Basic Medical Professional College, 4 Pushkinska St, Odesa, 65026, Ukraine; e-mail: liventsova.helen@gmail.com

SORPTION-LUMINESCENT DETERMINATION OF MARKS OF TEA PRODUCTS QUALITY

Natural organic polyphenolic compounds are essential components of the diet. Determination of the presence and amount of dominant phenolic and polyphenolic components in food objects allows to assess the quality of products, which is important in food expertise.

Luminescent sensors based on Ln(III) ion complexes are widely used for the highly sensitive determination of biologically active substances. The spectral and luminescent properties of polyphenolic substances – catechols, which are quality markers of tea products, have been studied. The diversity of isomers and the similarity of the structure of all catechols due to the presence of a chromium nucleus make it impossible to use the absorption spectra of individual isomers as a characteristic feature. The intrinsic luminescence of catechols is insignificant. When excited by UV light ($\lambda_{\text{excitation}}=365 \text{ nm}$) in the presence of catechols, a sensitized luminescence of Tb(III) ions is observed. In a thin layer of sorbent on TLC Aluminium oxide 60 plates and on the surface of Sephadex G-75, Tb(III) ion forms a complex with catechols that exhibits intense luminescence.

The effect of Tb (III) ion concentration, acidity of the medium, surface-active and donor-active substances on the luminescent signal was studied. The optimal conditions for complexation were found. Polytopic coordination ligands cause an increase in the luminescent signal of the complex sorbate. The greatest influence on the luminescent properties of sorbates is exerted by 1,10-phenanthroline. The luminescence intensity increases 30-fold.

In the presence of Phen, a change in the nature of the luminescence spectrum of the sorbate of the Tb(III) complex with Catechol is observed, which confirms the change in the symmetry of the complex, which occurs due to the entry of the Phen molecule into the internal coordination sphere with the formation of a multiligand complex. 1,10-Phenanthroline, due to the presence of chromophore groups, acts as a “photoantenna” and can participate in the transfer of excitation energy from triplet levels of ligands to the resonant level of the terbium ion. In the medium of nonionic surfactant Twin-80, an increase in the illumination of the sorbate complex is observed. In the micellar medium, the degree of radiation-free decontamination in the complex decreases due to an increase in the rigidity of its structure.

On the basis of the conducted studies, new analytical forms in the form of multiligand complexes of Tb (III) ion with catechol and 1,10-Phen in the Twin-80 medium were obtained and a method for solid-phase luminescent determination of the amount of catechols in tea products was developed.

Key words: solid-phase luminescence, Terbium, catechol, epigallocatechin gallate.

REFERENCES

1. Dalluge Joseph J., Nelson Bryant C. *Determination of tea catechins*. J. Chromatogr. A., 2000, vol. 881, no 1–2, pp. 411–424. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00062-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00062-5)
2. Senanayake S.P., Namal J. *Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review*. J. Funct. Foods., 2013, vol. 5, no 3, pp. 1–13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.011>

3. Ananingsih V.K., Sharma A., Zhou W. *Green tea catechins during food processing and storage: a review on stability and detection*. Food Res. Int. 2013, vol. 50, no 2, pp. 469–479. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.004>
4. Baraboy V.A. *Katekhiny chaynogo rasteniya: struktura, aktivnost', primeneniye*. Biotekhnol., 2008, vol. 1, no 3, pp. 25-36. (in Russian)
5. Dalluge J.J., Nelson B.C. *Determination of tea catechins*. J. Chromatogr. A. 2000, vol. 881, no 1-2, pp. 411-24. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00062-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00062-5)
6. Bronner W.E., Beecher G.R. *Method for determining the content of catechins in tea infusions by high-performance liquid chromatography*. J. Chromatogr. A. 1998, vol. 805, no 1-2, pp. 137–142. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00040-5)
7. Maslov O.Yu., Komisarenko M.A., Kolisnyk Yu.S., Kostina T.A. *Determination of catechins in green tea leaves by HPLC compared to spectrophotometry*. J. Org. Pharm. Chem. 2021, vol. 19, no 3, pp. 137-142. <https://doi.org/10.24959/ophecj.21.238177>
8. Fernandez P.L., Martin M.J., Gonzalez A.G., Pablos F. *HPLC determination of catechins and caffeine in tea. Differentiation of green, black and instant teas*. Analyst, 2000, vol. 125, no 3, pp. 421-425. <https://doi.org/10.1039/a909219f>
9. Wangkarn S., Grudpan K., Khanongnuch Ch., Pattananandecha Th., Apichai S., Saenjum C. *Development of HPLC Method for Catechins and Related Compounds Determination and Standardization in Miang (Traditional Lanna Fermented Tea Leaf in Northern Thailand)*. Mol. 2021, vol. 26, no 19, pp. 6052. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26196052>
10. Wang H., Provan G., Helliwell K. *HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors*. Food Chem. 2003, vol. 81, no 2, pp. 307-312. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00510-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00510-1)
11. Zuo Y., Chen H., Deng Y. *Simultaneous Determination of Catechins, Caffeine and Gallic Acids in Green, Oolong, Black and Pu-erh Teas using HPLC with a Photodiode Array Detector*. Talanta, 2002, vol. 57, no 2, pp. 307–316. [http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00030-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00030-9)
12. Atomssa T., Gholap A. *Characterization and determination of catechins in green tea leaves using UV-visible spectrometer*. J. Eng. Technol. Res., 2015, vol. 7, no 1, pp. 22-31. <http://dx.doi.org/10.5897/JETR2014.0527>
13. Pierce A., Graham H., Glassner S., Madlin H. at all. *Analysis of tea flavanols by gas chromatography of their trimethylsilyl derivatives*. Anal. Chem., 1969, vol. 41, no 2, pp. 298-302. <https://doi.org/10.1021/ac60271a019>
14. Luthria D.L., Jones A.D., Donovan J.L., Waterhouse A.L. *GC-MS determination of catechin and epicatechin levels in human plasma*. J. High Resolut. Chromatogr., 1997, vol. 20, no 11, pp. 621–623. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240201111>
15. Singh H., Ravindranath S., Singh C. *Analysis of tea shoot catechins: spectrophotometric quantitation and selective visualization on two-dimensional paper chromatograms using diazotized sulfanilamide*. J. Agric. Food Chem., 1999, vol. 47, no 3, pp. 1041-1045. <https://doi.org/10.1021/jf9807263>
16. Bel'tyukova S.V., Teslyuk O.I., Liventsova Ye.O. *Primeneniye metoda tonkosloynoy khromatografii dlya lyuminescentnogo opredelniya gallovoy kisloty v vinakh i zelenom chaye*. Visn. Odes. nac. univ., Him., 2003, vol. 8, no 8, pp. 220 – 225. (in Russian)
17. Kotani A., Takahashi K., Hanamata H. et al. *Attomole catechins determination by capillary liquid chromatography with electrochemical detection*. Anal. Sci., 2007, vol. 23, pp. 157–163. <https://doi.org/10.2116/analsci.23.157>
18. Agoaka H., Toyoshima S., Akeda K. *Spectrofluorometric Determination of Catechins with 1,2-Diphenylethylenediamine*. Anal. Sci., 2002, vol. 18, no 8, pp. 951-953. <https://doi.org/10.2116/analsci.18.951>
19. Nakagawa K., Okuda S., Miyazawa T. *Dose-dependent incorporation of tea catechins, (-)-epigallocatechin-3-gallate and (-)-epigallocatechin, into human plasma*. Biosci. Biotechnol. Biochem, 1997, vol. 61, no 12, pp. 1981-1985. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.1981>
20. Bel'tyukova S.V., Stepanova A.A., Teslyuk O.I. *Primeneniye tverdogfaznoy spektrometrii dlya opredeleniya antioksidantov*. [Application of solid-phase spectrometry for the determination of antioxidants.] Saarbrücken, Deutschland: Palmarium Academic Publishing, 2015, 184 p. (in Russian)