

С. В. Бельтюкова¹, Е. В. Чердниченко¹, О. И. Теслюк²

¹Одесская национальная академия пищевых технологий, кафедра пищевой химии
ул. Канатная, 112, Одесса, 65039, Украина; e-mail: okogochoco@gmail.com

²Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины,
Люстдорфская дорога, 86, Одесса, Украина, 65080

ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ ГОРЬКИХ ВЕЩЕСТВ В ХМЕЛЕ

Изучены люминесцентные свойства комплексов Tb(III) с горькими веществами хмеля. Исследована зависимость интенсивности люминесценции комплексов от концентрации тербия, кислотности среды. Установлено, что в комплексе осуществляется эффективный перенос энергии возбуждения от лигандов к иону лантанида, что обуславливает интенсивную люминесценцию последнего. Изучено влияние растворителей на интенсивность люминесценции комплексов. Показана возможность прямого люминесцентного определения общего содержания горьких веществ хмеля в его экстрактах по сенсibilизированной люминесценции иона Tb(III).

Ключевые слова: горькие вещества хмеля, сенсibilизированная люминесценция иона Tb(III)

Хмель – богатый источник соединений полифенольной природы, относящихся к таким классам, как флавогликозиды, пренилованные флавоноиды и производные дигидроксикоричной кислоты. Благодаря чему он является основным и незаменимым сырьем при производстве пива, находит применение в пекарном производстве, в фармацевтической промышленности, в народной и научной медицине, и при производстве биологически активных добавок [1].

Горечи хмеля относятся к полипептидам ацилфлороглюцинового типа, являются смесью кислых и смолистых веществ. Согласно международной номенклатуре их называют «общими смолами», а также общими горькими веществами. В соответствии с классификацией [5] горькие вещества хмеля объединяют хмелевые смолы и горькие хмелевые кислоты. Это α - и β -кислоты; α - и β -мягкие смолы – продукты окисления α - и β -кислот; γ - и δ -твердые смолы, которые являются продуктами окисления мягких смол. Твердые смолы — фракции общих смол, не растворимых в парафиновых углеводородах, гексане, петролейном эфире с низкой температурой кипения. Мягкие смолы — фракции общих смол, растворимых в парафиновых углеводородах, гексане, петролейном эфире с низкой температурой кипения [2].

Горькие вещества являются наиболее ценными и характерными компонентами хмеля в пивоваренном производстве. Они придают пиву горьковатый вкус, улучшают его стабильность и повышают (благодаря своим антисептическим свойствам) биологическую стойкость пива [3]. Их содержание зависит от условий, места выращивания и является сортовой особенностью хмеля. В зависимости от селекционного сорта содержание α -горьких кислот может колебаться от 30 – 42 %, β -горьких кислот – 46 – 58 % и около 12 % твердых смол (от общего содержания горьких веществ). Количественное содержание суммы горьких кислот определяют неводным титрованием экстракта хмеля 0.01 М раствором гидроксида калия

в присутствии фенолфталеина [4]. Общее содержание горьких веществ в хмеле определяют кондуктометрическим методом [5]. Способ основан на измерении электропроводности экстракта горьких веществ в процессе его кондуктометрического титрования раствором свинца уксуснокислого в глицерине. К недостаткам метода следует отнести сложность проведения пробоподготовки, необходимость использования многих растворителей – метанола, диэтилового эфира, метилхлорида, этанола и диметилсульфоксида, – в том числе и токсичных, а также необходимость проведения неводного титрования.

Методика определения α -горьких кислот в хмеле описана нами ранее [6].

В настоящей работе представлены результаты исследования по разработке методики люминесцентного определения горьких веществ (ГВ) в хмеле с использованием сенсibilизированной люминесценции иона Tb(III).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

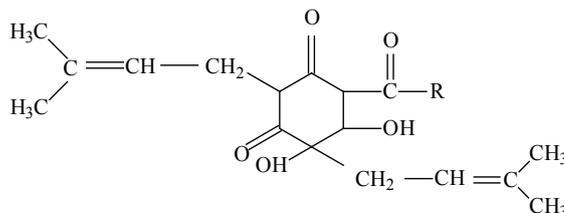
Хлориды Eu(III) и Tb(III) готовили растворением их высокочистых оксидов (99.998%) в хлористоводородной кислоте (1:1) с последующим удалением ее избытка упариванием. Концентрацию устанавливали комплексометрическим титрованием. Точные навески растворяли в бидистиллированной воде. Раствор 1,10-фенантролина готовили растворением точной навески (до четвертого знака после запятой) вещества в бидистиллированной воде с подкислением соляной кислотой до pH 5. Растворы других донорно-активных веществ готовили растворением их точных навесок в этаноле (2,2'-дипиридила, трифенилфосфиноксида (ТФФО), триоктилфосфиноксида (ТОФО), β -циклодекстрина). Горькие вещества экстрагировали из молотого французского хмеля (1 г) согласно методике [5] этиловым эфиром (30 мл) в цилиндре объемом 100 см³. Цилиндр закрывали пробкой, эфирный экстракт настаивали 1 час, взбалтывая 3-4 раза и оставляли на 2 часа до полного осветления эфирной вытяжки. Для анализа отбирали осветленную эфирную вытяжку. Перед анализом экстракт разбавляли в 20 раз этанолом.

В качестве стандарта использовали сумму горьких веществ, полученную из хмеля согласно методике [5]. Для получения раствора ГВ с точно известной концентрацией отбирали 20 мл эфирного экстракта, удаляли этиловый эфир при комнатной температуре, осадок высушивали вакуумной сушкой до постоянной массы, взвешивали осадок, количественно переносили выделенную сумму ГВ в мерную колбу на 25 мл.

Спектры люминесценции ионов Eu(III) и Tb(III) регистрировали в области 560-650 и 450-650 нм с помощью спектрометра Cary Eclipse Varian (Австралия) с двойным источником света (ксеноновая лампа 150-W **сплошного спектра** и импульсная лампа). Значения энергии триплетных уровней горьких веществ определяли регистрацией спектров фосфоресценции их комплексов с иттрием при 77 К. Для изучения кинетики затухания люминесценции применяли осциллографическую регистрацию. Люминесценцию возбуждали при этом импульсным азотным лазером с длиной волны излучения 337 нм. Спектры поглощения растворов регистрировали на спектрофотометре UV-2401 PC Shimadzu (Япония). Значения pH растворов измеряли с помощью pH-метра OP-211/1 Radelkis (Венгрия) со стеклянным электродом. Необходимые значения pH создавали в растворе с помощью уротропина.

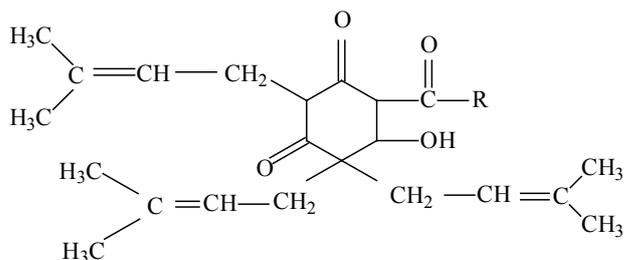
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно литературным данным [2] горькие вещества хмеля обусловлены наличием в основном α - и β -горьких кислот. α -Горькие кислоты представляют собой смесь производных, главной составной частью которых является гумулон ($R = -CH_2 - CH(CH_3)_2$):



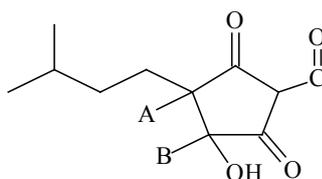
Остальные аналоги (когумулон, адгумулон, постгумулон) имеют в боковой цепи различные заместители (R) [7].

β -Горькие кислоты – смесь производных, главной составной частью которых является лупулон ($R = -CH_2 - CH(CH_3)_2$):



Остальные аналоги (колупулон, адлупулон, постлупулон) имеют в боковой цепи различные заместители (R) [7].

α - и β -Мягкие смолы отличаются различными заместителями в положении 4 и 5 (A и B) в циклопентантрионовом ядре и имеют общее название резупоны [7]:



α - и β -горькие кислоты содержат дикарбонильный фрагмент и подобно β -дикетонам, очевидно, проявляют в растворах кето-енольную таутомерию и могут образовывать с ионами двух- и трехзарядных катионов прочные комплексные соединения. Эта группа лигандов вызывает определенный интерес благодаря наличию в их структуре подвижной π -электронной системы, сопряженной с хелатным циклом, что может благоприятствовать появлению сенсibilизированной люминесценции лантанидов. Возможность координации иона Eu^{+3} с β -дикарбонильной группировкой циклопентантрионового ядра показана ранее в [8].

Горькие вещества (ГВ) имеют в ультрафиолетовой области спектра полосы поглощения с максимумами 244,2 нм и 270 нм, что обуславливает эффективное поглощение световой энергии лигандами (рис. 1). Энергия триплетного уровня лигандов (20500 см^{-1}), найденная из спектра фосфоресценции, равна или выше энергии возбужденных уровней ионов Eu(III) (17300 см^{-1}) и Tb(III) (20500 см^{-1}), что делает возможным эффективное поглощение и последующий перенос энергии возбуждения от лигандов на резонансные уровни этих ионов. В присутствии ГВ указанные ионы проявляют интенсивную люминесценцию.

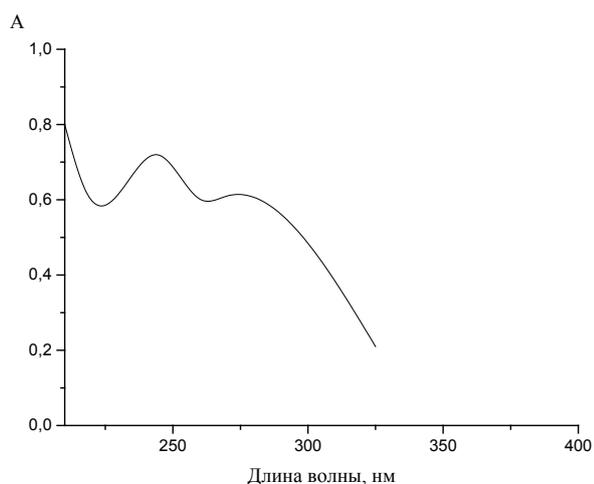


Рис. 1. Спектр поглощения суммы горьких веществ ($l = 1 \text{ см}$)

Наиболее интенсивная люминесценция наблюдается для иона Tb(III) . Резонансный уровень иона Tb(III) расположен ближе к триплетному уровню лигандов, поэтому в процессе передачи энергии возбуждения от лигандов к иону лантанида снижается степень безызлучательных потерь. В случае Eu(III) интенсивность люминесценции значительно слабее. Вероятно, в этом случае происходит передача энергии возбуждения на энергетический уровень Eu(III) $^5\text{D}_1$ (19000 см^{-1}) с последующей безызлучательной дезактивацией до первого возбужденного состояния $^5\text{D}_0$ (17300 см^{-1}), что приводит к значительным потерям энергии возбуждения.

Спектр возбуждения люминесценции (рис. 2) раствора комплексов характеризуется наличием широкой полосы в области 250-300 нм с максимумом 275 нм.

В спектре люминесценции водно-этанольных растворов комплексов иона Tb(III) наиболее интенсивной является полоса, соответствующая его сверхчувствительному переходу (СЧП) – $^5\text{D}_0 - ^7\text{F}_5$ ($\lambda=545 \text{ нм}$), значительно слабее по интенсивности полосы с максимумами при 490, 586 и 620 нм (переходы с уровня $^5\text{D}_4$ на подуровни $^7\text{F}_6$, $^7\text{F}_4$ и $^7\text{F}_3$ соответственно) (рис. 3).

Увеличение $I_{\text{люм. Tb(III)}}$ в присутствии горьких веществ на несколько порядков величины является косвенным подтверждением образования комплексных соединений. Подтверждением комплексообразования является и тот факт, что в присутствии горьких веществ время жизни возбужденного состояния иона Tb(III) значительно возрастает ($\tau_{\text{компл.}} = 880 \text{ мкс}$) по сравнению со временем жизни аква-иона тербия ($\tau = 420 \text{ мкс}$).

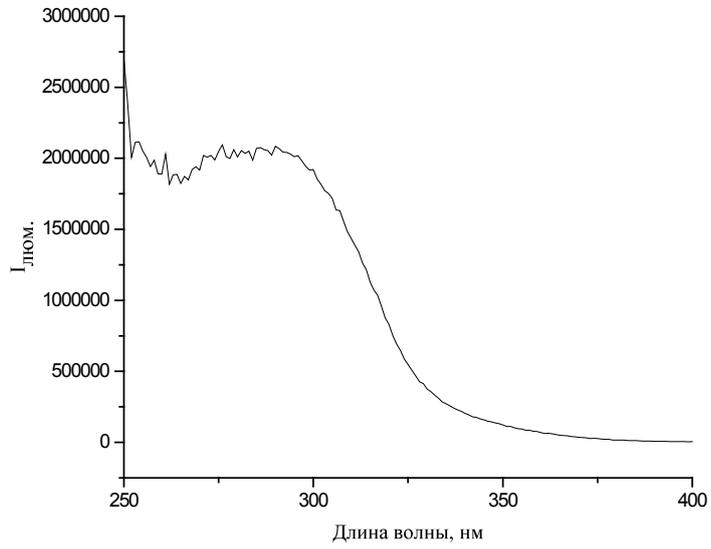


Рис. 2. Спектр возбуждения люминесценции ионов Tb(III) в комплексах с горькими веществами

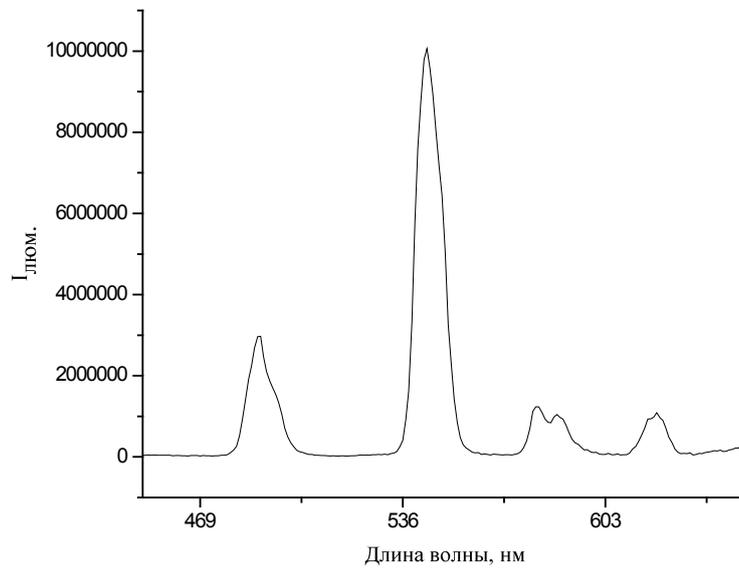


Рис. 3. Спектр люминесценции ионов Tb(III) в комплексах с горькими веществами

Образование комплексов подтверждено также с использованием спектра поглощения иона Nd(III), его сверхчувствительного перехода (СЧП) $^4I_{9/2} \rightarrow ^2G_{7/2, 5/2}$ ($\lambda = 575$ нм). В присутствии горьких веществ интенсивность СЧП возрастает, что может служить подтверждением комплексообразования в системе ГВ-Nd(III).

Комплексообразование иона Tb(III) с ГВ наблюдается в широком интервале значений pH 3.0 – 9.0, с максимумом люминесценции при pH 5.8 – 6.1, которое устанавливали с помощью уротропина. При pH < 3.0 степень образования комплекса, очевидно, резко снижается, а при pH > 9.0, вероятно, происходит разрушение комплексов с образованием гидроксидов лантанида.

Интенсивность люминесценции комплексов зависит от природы растворителей (рис. 4). Механизм влияния растворителя на спектрально-люминесцентные характеристики комплекса очень сложен. Растворитель влияет на химизм реакции, устойчивость комплекса, кислотно-основное равновесие лигандов, пересольватацию иона металла и его комплексных форм в растворе [9]. Можно предположить, что в данном случае увеличение $I_{\text{люм.}}$ иона лантанида в присутствии растворителей связано с вытеснением молекул воды из внешней, а затем и из внутренней координационной сферы комплекса, что уменьшает процессы дезактивации энергии возбуждения [10].

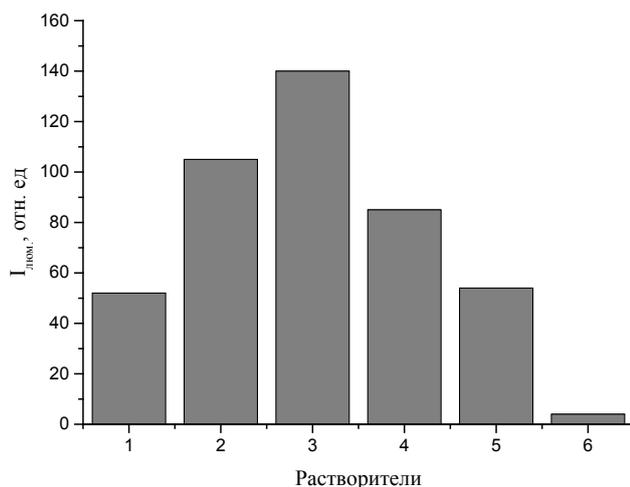


Рис. 4. Влияние растворителей на $I_{\text{люм.}}$ иона Tb(III) в комплексе с горькими веществами:

1 – метанол; 2 – этанол; 3 – изопропанол; 4 – ацетонитрил; 5 – ДМСО; 6 – вода
($C_{\text{Tb}} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

Как видно из рис. 4, наибольшая $I_{\text{люм.}}$ Tb наблюдается в изопропаноле, однако для разработки методики определения был выбран более доступный и дешевый растворитель этанол, в котором $I_{\text{люм.}}$ несколько ниже. $I_{\text{люм.}}$ Tb(III) зависит от количества этанола в растворе (рис. 5). Оптимальное количество этанола составляет 60%. $I_{\text{люм.}}$ Tb(III) в растворе оптимальна при содержании ионов Tb(III) – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (табл. 1).

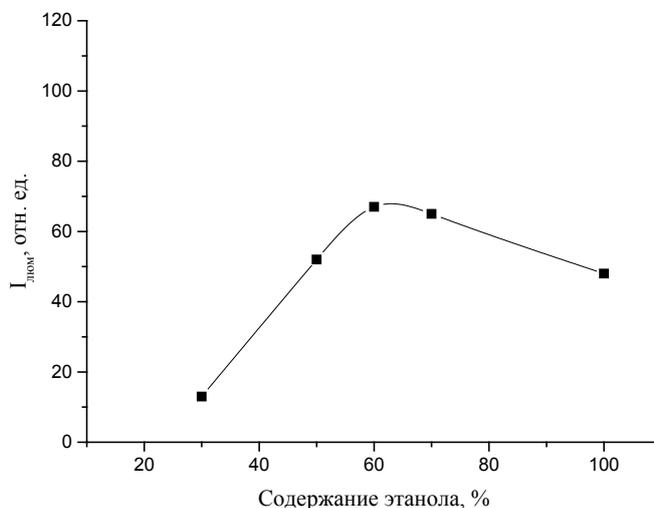


Рис. 5. Зависимость $I_{\text{люм}}$ иона Tb(III) в комплексе с горькими веществами от содержания этанола ($C_{\text{Tb}} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

Установлено, что поверхностно-активные вещества (цетилтриметиламмоний хлорид, цетилпиридиний хлорид, додецилсульфат натрия, тритон X-100, твин-80), а также донорно-активные вещества (1,10-фенантролин, 2,2'-дипиридил, ТОФО, ТФФО, β -циклодекстрин) в концентрациях $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л не влияют на интенсивность люминесценции комплексов, либо уменьшают её.

Таблица 1

Зависимость $I_{\text{люм}}$ иона Tb(III) в комплексе с горькими веществами от концентрации Tb(III)

$C_{\text{Tb(III)}}$, моль/л	$I_{\text{люм}}$, отн. ед.
$1 \cdot 10^{-5}$	20
$3 \cdot 10^{-5}$	77
$5 \cdot 10^{-5}$	100
$1 \cdot 10^{-4}$	112
$3 \cdot 10^{-4}$	80
$5 \cdot 10^{-4}$	62

При оптимальных условиях комплексообразования $I_{\text{люм}}$ Tb(III) достигает максимума через 2-3 минуты после сливания растворов и остается постоянной в течение 3-х часов. Интенсивность люминесценции Tb(III) в комплексе с горькими кислотами пропорциональна содержанию горьких веществ в растворе в интервале концентраций 0,1-50 мкг/мл. Предел обнаружения горьких веществ составляет 0,03 мкг/мл.

Достаточно широкий интервал линейной зависимости $I_{\text{люм}}$ от концентрации горьких веществ позволяет использовать метод добавок.

Определение общего содержания горьких веществ проводили в образцах хмеля гранулированного. В три пробирки помещают по 0.2 мл разбавленного анализируемого экстракта хмеля, в две из них добавляют стандартный раствор горьких веществ в таком количестве, чтобы $I_{\text{люм}}$ пробы выросла в 2 и 3-4 раза соответственно. Затем во все три пробирки добавляют по 0.1 мл раствора хлорида тербия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, 0.2 мл раствора уротропина 40%-го, 3 мл этанола и дистиллированную воду до 5 мл. Интенсивность люминесценции иона Tb (III) измеряют при $\lambda = 545$ нм ($\lambda_{\text{возб.}} = 365$ нм). Параллельно готовят раствор контрольной пробы, которая содержит все компоненты, кроме горьких веществ.

Содержание горьких веществ рассчитывают по формуле:

$$C_x = \frac{I_x}{I_{x+\text{доб.}} - I_x} \cdot C_1, \text{ мг/мл}$$

где C_x – концентрация горьких веществ в хмеле; C_1 – концентрация стандартного раствора горьких веществ, мг/мл; I_x – интенсивность люминесценции анализируемого экстракта хмеля; $I_{x+\text{доб.}}$ – интенсивность люминесценции экстракта хмеля с добавкой стандартного раствора горьких веществ.

Содержание горьких веществ в хмеле в процентах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{c \cdot 10^{-3} \cdot V_1 \cdot V_0 \cdot 100}{V \cdot a}, \%$$

где C – концентрация горьких веществ в пробе, найденная методом добавок, мг/мл; V_1 – конечный объём пробы, в котором проводили определение, мл; V_0 – объём мерной колбы, в которой растворяли экстракт горьких веществ, мл; V – объём пробы, взятой для определения, мл; a – масса навески хмеля, из которого экстрагировали горькие вещества, г; 10^{-3} – коэффициент перерасчета мг в г.

Результаты определения горьких веществ в хмеле методом добавок приведены в таблице. Проверку правильности проводили путем сравнения результатов, полученных предложенным нами люминесцентным методом и уже известным стандартным кондуктометрическим методом, который применяется для оценки качества хмеля. Воспроизводимость определения проверена путем статистической обработки результатов определения.

Таблица 2

Результаты определения общего содержания горьких веществ в хмеле ($n = 5, P = 0,95$)

№ образца	Образец хмеля	Найдено, % предлагаемым методом	S_p , %	Найдено, % кондуктометрическим методом	S_p , %
1	Хмель гранулированный (Франция)	$15,87 \pm 0,80$	5,0	$15,2 \pm 0,68$	4,5
2	Хмель гранулированный (Германия)	$7,9 \pm 0,49$	6,1	$8,1 \pm 0,47$	5,8

ВЫВОДЫ

Изучены люминесцентные свойства комплексов ионов Tb(III) с горькими веществами хмеля. Показана возможность прямого люминесцентного определения общего содержания горьких веществ в хмеле по сенсibilизированной люминесценции иона Tb(III)

ЛИТЕРАТУРА

1. Годованний А.А., Леценко Н.И., Райтман И.Г., Ежов И.С. Хмель и его использование / Под редакцией Ежова И.С. – Киев: Урожай, 1990. – 335 с.
2. Латыпова Г.М., Аюпова Г.В., Бубенчикова В.Н., Галимова Д.Ф., Батырова Е.Д., Шафикова С.Ф. Исследования по содержанию горьких кислот сырья хмеля обыкновенного // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – №10-2 (129). – С.65-69.
3. Кунце В. Технология солода и пива. – СПб.: «Профессия», 2001. – 912 с.
4. Шмидт Л. Г. Горькие вещества хмеля и методы их анализа. Центр. ин-т науч.-техн. информации пищевой пром-сти Гос. ком. по пищевой пром-сти. при Госплане СССР. Москва: [б.и.], 1964 – 64 с.
5. Ермолаева Г.А. Справочник работника лаборатории пивоваренного предприятия – Санкт-Петербург.: Профессия, 2004. – 536 с.
6. Бельтюкова С.В., Чередниченко Е.В., Теслюк О.И. Люминесцентное определение α -горьких кислот в хмеле // Методы и объекты химического анализа. – 2015. – №3 (10). – С. 108-112.
7. Ляшенко Н.И. Биохимия хмеля и хмелепродуктов. – Житомир: Полисся, 2002. – 388 с.
8. Tomlinson J.B., Ormrod I.H.L., Sharpe F.R. A novel method for Bitterness determination in beer using a delayed fluorescence technique // J. Inst. Brew. – 1995. – Vol. 101. – P.113-118.
9. Полуэктов Н.С., Кононенко Л.И., Ефрюшина Н.П., Бельтюкова С.В. Спектрофотометрические и люминесцентные методы определения лантаноидов. – Киев: Наукова думка, 1989. – 254 с.
10. Tanaka F., Kawasaki Y. Preferential solvation of the europium (III) ion in water-non-aqueous solvent mixtures. A luminescence lifetimes study // J. Chem. Soc., Faraday Trans. – 1988. – Vol. 84, No 4. – P. 1083-1090. <http://dx.doi.org/10.1039/f19888401083>

Стаття надійшла до редакції 04.08.15

С. В. Бельтюкова¹, Е. В. Чередниченко¹, О. І. Теслюк²

¹Одеська національна академія харчових технологій, кафедра харчової хімії
вул. Канатна, 112, Одеса, 65039, Україна; e-mail: okorochoco@gmail.com

²Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дорога,
86, Одеса, Україна, 65080

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО ВМІСТУ ГІРКИХ РЕЧОВИН У ХМЕЛІ

Вивчені люмінесцентні властивості комплексів Tb(III) з гіркими речовинами хмелю. Досліджено залежність інтенсивності люмінесценції комплексів від концентрації тербію, кислотності середовища. Встановлено, що в комплексі здійснюється ефективний перенос енергії збудження від лігандів до іону лантаніду, що обумовлює інтенсивну люмінесценцію останнього. Вивчено вплив розчинників на інтенсивність люмінесценції комплексів. Показана можливість прямого люмінесцентного визначення загального вмісту гірких речовин хмелю в його екстрактах по сенсibilізованій люмінесценції іона Tb (III).

Ключові слова: гіркі речовини хмелю, сенсibilізована люмінесценція іона Tb (III)

S. V. Beltyukova¹, Ie. V. Cherednychenko¹, O. I. Teslyuk²

¹Odessa National Academy of Food Technologies, Kanatnaya st., 112, Odessa, Ukraine, 65039; e-mail: okorochocho@gmail.com

²Bogatskii Physicochemical Institute, National Academy of Sciences of Ukraine, Lyust-dorfskaya dor. 86, Odessa, Ukraine, 65080

LUMINESCENT DETERMINATION OF TOTAL BITTER SUBSTANCES CONTENT IN HOPS

The possibility of determination of total bitter substances content in hops by sensitized Tb(III) ions luminescence is studied. The ligands under study contain a dicarbonyl fragment and, obviously, similar to β -diketones form complexes with ions of lanthanides. The spectroscopic characteristics of hop bitter substances are studied. The study shows that aqueous-ethanol solutions of these ligands have an intensive absorption band in UV region of spectrum, energy of their triplet level is close to energy of the excited level of Tb(III) ion that makes transmission of excitation energy to the Tb(III) ion possible. It is established, that in the presence of hop bitter substances lifetime of the excited state of an ion of Tb (III) considerably increases in comparison with lifetime of terbium aqua ion that can confirm formation of complexes. The dependence of luminescence intensity of complexes on concentration of terbium, acidity, type of solvent is investigated. Optimal luminescence intensity of Tb(III) ion is found in neutral mediums at pH 5.8-6.1 and considerably increases in the presence of alcohols – ethanol and isopropanol. The surface-active substances (cetyltrimethylammonium chloride, cetylpyridinium chloride, sodium dodecyl sulfate, triton X-100, tween-80), and donor-active agents (1,10-phenanthroline, 2,2'-dipyridyl, triphenylphosphine oxide, trioctylphosphine oxide, β -cyclodextrin) don't influence intensity of the luminescence of complexes or reduce it. The detection limit of bitter substances in extracts of hop makes 0,01 mkg/ml.

Keywords: hop bitter substances, sensitized luminescence of Tb(III) ion.

REFERENCES

1. Godovannyiy A.A., Leschenko N.I., Raytman I.G., Ezhov I.S. *Hmel i ego ispolzovanie* [Hop and its usage] Kiev: Urozhay, 1990, 335 p.
2. Latiyipova G.M., Ayupova G.V., Bubenchikova V.N., Galimova D.F., Batyirova E.D., Shafikova S.F. *Issledovaniya po sodержaniyu gorkih kislot syirya hmelya obyiknovennogo*. Nauchnyie vedomosti BelGU. Seriya: Meditsina. Farmatsiya, 2012, vol. 129, no. 10-2, pp. 65-69.
3. Kuntse V. *Tehnologiya soloda i piva* [Technology of malt and beer] SPb.: «Professiya», 2001, 912 p.
4. Shmidt L.G. *Gorkie veschestva hmelya i metody ih analiza*. Tsentr. in-t nauch.-tehn. informatsii pischevoy prom-sti Gos. kom. po pischevoy prom-sti. pri Gosplane SSSR. Moskva: [b.i.], 1964, 64 p.
5. Ermolaeva G.A. *Spravochnik rabotnika laboratorii pivovarenogo predpriyatiya*. Sankt-Peterb.: Professiya, 2004, 536 p.
6. Beltyukova S.V., Cherednychenko Ie.V., Teslyuk O.I. *Luminescent Determination of α -Bitter Acids in Hops*. Methods and objects of chemical analysis, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 108–112
7. Lyashenko N.I. *Biohimiya hmelya i hmeleproduktov* [Biochemistry of hops and hop products] Zhitomir: Polissya, 2002, 388 p.
8. Tomlinson J.B., Ormrod I.H.L., Sharpe F.R. *A novel method for Bitterness determination in beer using a delayed fluorescence technique*. J.Inst.Brew., 1995, vol.101, pp.113-118.
9. Poluektov N.S., Kononenko L.I., Efyushina N.P., Beltyukova S.V. *Spektrofotometricheskie i lyuminescentnyie metody opredeleniya lantanoidov*. Kiev: Naukova dumka, 1989, 254 p.
10. Tanaka F., Kawasaki Y. *Preferential solvation of the europium (III) ion in water-non-aqueous solvent mixtures. A luminescence lifetimes study*. J. Chem. Soc., Faraday Trans, 1988, vol. 84, no. 4, pp. 1083-1090. <http://dx.doi.org/10.1039/f19888401083>.