



Особенности проведения пробоподготовки и газохроматографического анализа при определении туйона в алкогольных и безалкогольных напитках

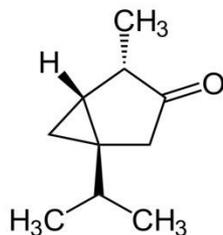
Тимофеева О.Н., Полянских Е.И., Белышева Л.Л.

*лаборатория химии пищевых продуктов
Республиканское унитарное предприятие
«Научно-практический центр гигиены»*

Туйон (tujone)

монотерпин (1-изопропил-4-м тилбицикло[3.1.0]гексан-3-он), существует в природе в виде двух стереоизомерных форм: **α-туйон** и **β-туйон**

- является компонентом эфирных масел растений, традиционно используемых для **ароматизации пищевых продуктов и напитков**
- при экстракции и дистилляции напитка, переходит в конечный продукт
- оказывает влияние на центральную нервную систему человека
- считается нейротоксичным: проявляет аналептический и анксиогенный эффекты, может вызывать галлюцинации
- α-изомер туйона является более токсичным
- известен термин «синдром абсентизма»



- в РБ содержание туйона **нормируется в ТР ТС 029/2012** «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств»
- максимальный уровень содержания туйона для алкогольных напитков: **10 мг/л** для алкогольных напитков, произведенных с использованием полыни **35 мг/л**
- безалкогольные напитки: не более **0,5 мг/л** туйона

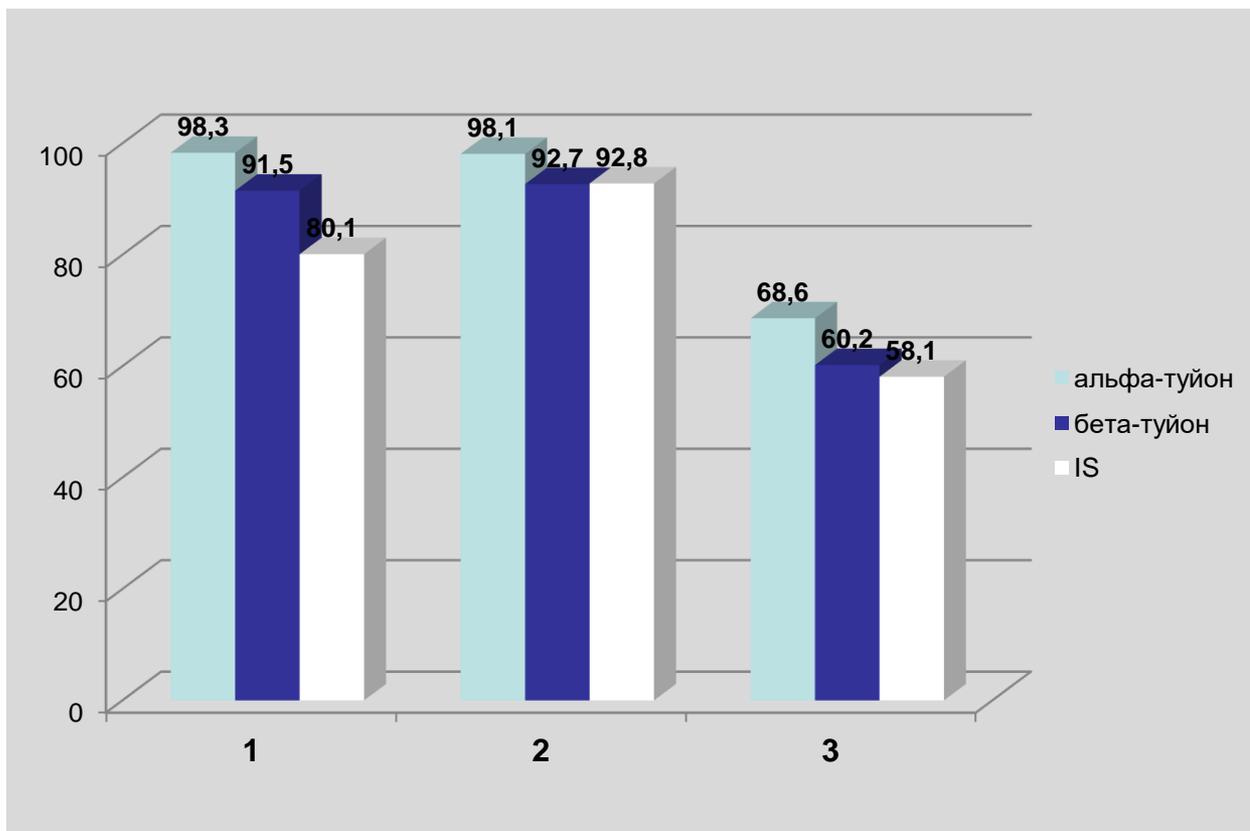
Цель – разработка методики, для эффективного контроля алкогольной и безалкогольной продукции

Особенности физических свойств туйона:

является очень летучим компонентом, возможны потери на стадии концентрирования

Степень потери туйона и IS (метилдеcanoата) при концентрировании:

- 1 - Упаривание на роторном испарителе
- 2 - Отдувание остатков растворителя грушей
- 3 - Упаривание в токе азота



- степень потери туйона при различных вариантах концентрирования составляла **80,1–98,3 %**
- степень потери IS **58,1-80,1 %**

Концентрирование методом ТФЭ



Особенности пробоподготовки:

концентрирование/очистка методом ТФЭ

Алкобольные напитки

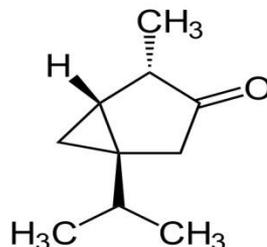
2,0 см³ образца

Экстракция/очистка с использованием ТФЭ С18

- 1) кондиционировать картридж 3 см³ метанола
- 2) промыть картридж 3 см³ дист. воды
- 3) нанести 2,0 см³ образца алкогольного напитка
- 4) высушить картридж
- 5) элюировать туйон 1 см³ метанола

Особенности пробоподготовки:

- нет необходимости многократно концентрировать экстракт
- 1 стадия
- нет переэкстракции
- нет потерь при концентрировании
- очистка и концентрирование одновременно
- наличие в пробе **сахара** не влияет на результаты экстракции
- **неокрашенные** алкогольные напитки не могут быть очистки экстракта



Безалкогольные напитки

20,0 см³ образца

добавить 100 мкл раствора внутреннего стандарта метилдеcanoата

однократная ЖЖ экстракция

1 см³ хлористого метилена (20:1)

Центрифугирование

(улучшение разделения фаз после ЖЖ экстракции)

5 мин при 5000 об/мин

Экстракция/очистка с использованием ТФЭ С18

- 1) кондиционировать картридж 3 см³ метанола
- 2) промыть картридж 3 см³ дихлорметана
- 4) высушить картридж
- 3) нанести 1 см³ экстракта пробы
- 4) высушить картридж
- 5) элюировать туйон 1 см³ дихлорметана

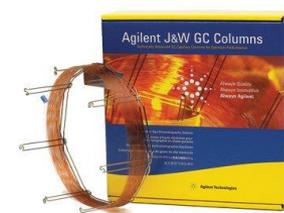
Особенности пробоподготовки:

- необходимость многократно (20:1) концентрировать экстракт
- летучие растворители
- несколько стадий
- очистка и концентрирование одновременно

Особенности инструментального анализа:

сходство свойств туйона при хроматографировании со свойствами токсичных микропримесей в алкогольной продукции

- газовый хроматограф «Хроматэк-Кристалл 5000.2» с программным обеспечением «Хроматэк ООО «Хроматэк», РФ
- капиллярная колонка полярная DB-FFAP (60 м×0,53 мм×1,0 мкм) – используется для анализа токсичных микропримесей в алкогольной продукции
- стандартный раствор смеси α -, β - изомеров туйона («Sigma-Aldrich», Cat. № 04314)
- стандартный раствор α -туйона («Sigma-Aldrich», Cat. № 89231)



Разработанные условия хроматографирования:

- Газ-носитель – водород; давление на входе в колонку – 40 Кпа; скорость потока газа-носителя – 54,7 см/сек; деление потока газа-носителя – 7 : 1
- температура испарителя – 230 °С; температура детектора – 250 °С
- программирование температуры термостата колонки: от 65 °С (изотерма 5 мин) со скоростью 10 °С/мин до 130 °С; от 130 °С до 140 °С со скоростью 1 °С/мин; от 140 °С до 190 °С со скоростью 10 °С/мин
- время выхода α -туйона – 17,12 мин, β -туйона – 17,77 мин, внутреннего стандарта метилдеcanoата – 22,47 мин

Особенности количественного определения:

возможность использования метода абсолютной градуировки и метода внутреннего стандарта

Алкогольные напитки

Расчет методом абсолютной градуировки

Необходимость определять содержание туйона в диапазоне
1,0-100,0 мг/дм³ продукта

градуировочные растворы α -, β - изомеров туйона концентрацией в диапазоне
2,0–20,0 мг/дм³ в метаноле

- 1 стадия при пробоподготовке
- нет потерь при концентрировании
- нет необходимости многократно концентрировать экстракт

Безалкогольные напитки

Расчет методом внутреннего стандарта

Необходимость определять содержание туйона в диапазоне
0,1-10,0 мг/дм³ продукта

градуировочные растворы α -, β - изомеров туйона концентрацией в диапазоне
2,0–20,0 мг/дм³ в дихлорметане

использование **внутреннего стандарта Метилдеканоат «Sigma-Aldrich», Cat.№ 299030**
20 мг/дм³ в дихлорметане
100 мг/дм³ в этаноле для внесения в пробу

- необходимость многократно концентрировать экстракт
- летучие растворители
- несколько стадий

Особенности количественного определения:

возможность использования градуировочного графика α -туйона для расчета содержания β -туйона

Сравнение градуировочных характеристик α -туйона и β -туйона при анализе алкогольных и безалкогольных напитков показало, что они имеют одинаковый угол наклона

Расчет содержания β -туйона с использованием градуировочной характеристики для α -туйона при анализе **алкогольных напитков**

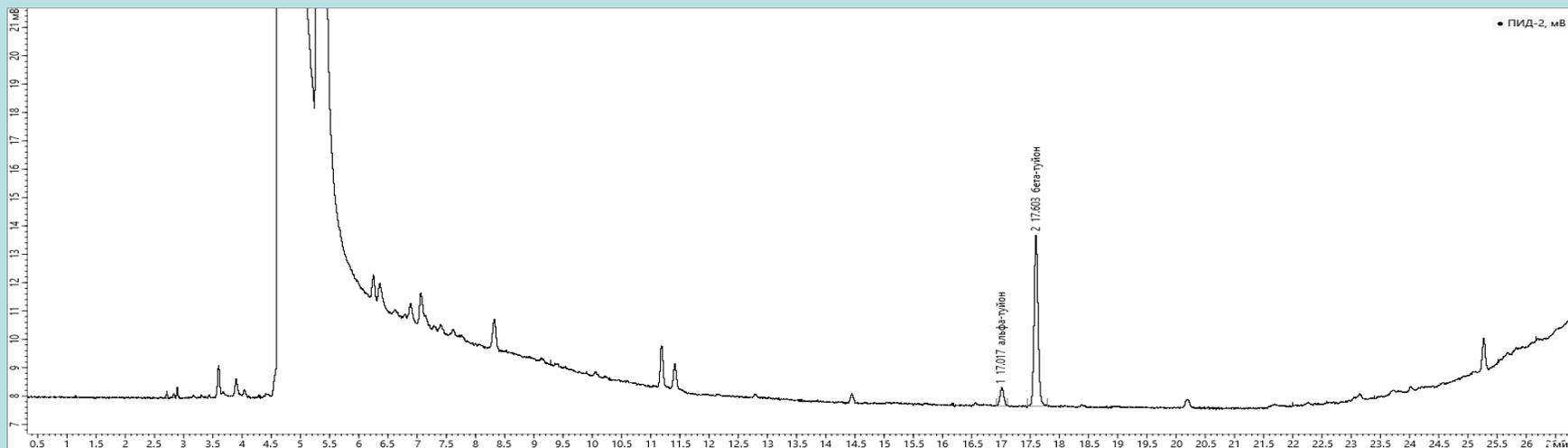
j	k	i	$C_{прпр}$	S	$C_{изм}$ (расчет по гр.гаф. альфа-туйона $Y=b*x$ $b=3,552$)	Расхождение	$K, \% (\alpha\text{-туйон})$
3	2	6	9,21	32,098	9,04	1,9	15,5
							1,9 < 15,5

Расчет содержания β -туйона с использованием градуировочной характеристики для α -туйона при анализе **безалкогольных напитков**

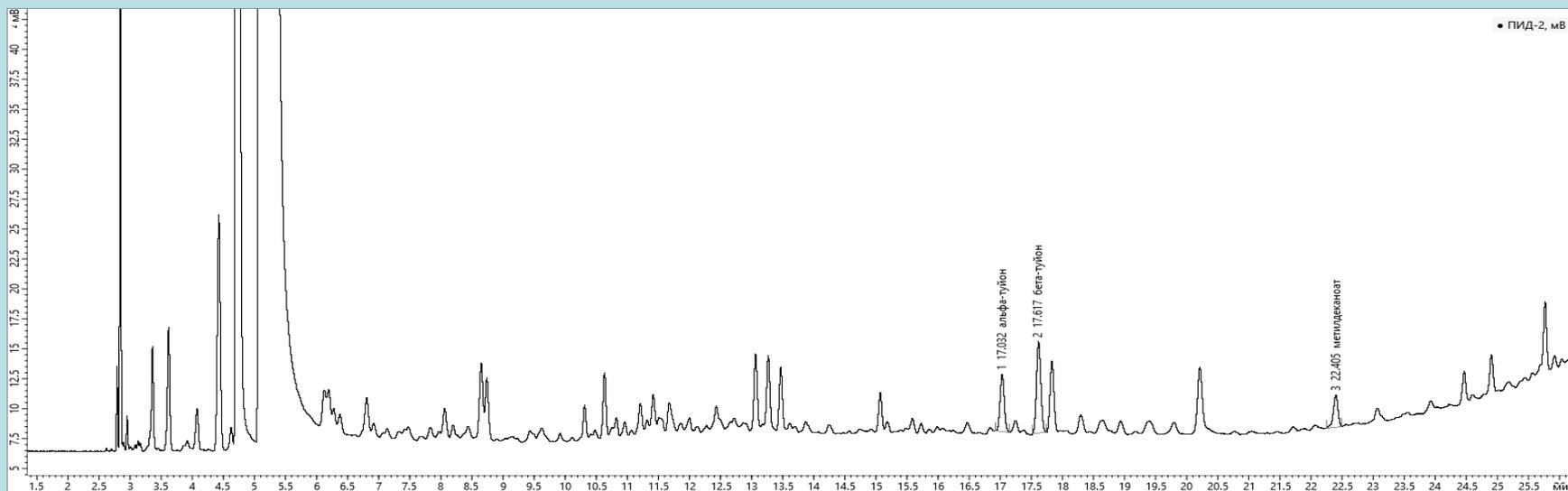
j	k	i	$C_{прпр}$	C_{IS}	$C_{отн}$	S	S_{IS}	$S_{отн}$	$C_{изм}$ (расчет по гр.гаф. альфа- туйона $Y=b*x$ $b=1,549$)	Расхождение	$K, \% (\alpha\text{-туйон})$
3	2	6	9,27	10,1	0,91371	37,730	28,007	1,347	8,82	4,8	13,3
											4,8 < 13,3

Расхождение между измеренной массовой долей β -туйона в выбранном градуировочном растворе и его приписанным значением, выраженное в процентах, не превышало соответствующего установленного норматива контроля $K_{эр}$ для α -туйона

Хроматограмма образца алкогольного напитка (абсент)



Хроматограмма образца безалкогольного напитка (настой полыни горькой)



Работа проведена в рамках:
Задание 01.17. подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021-2025 годы

Впервые в Республике Беларусь:

– разработана метрологически аттестованная методика измерений массовой доли туйона (α - и β - изомеров) в напитках алкогольных и безалкогольных будет;
— разработанная методика измерений характеризуется **высокой чувствительностью**, что позволяет проводить измерения содержания туйона на уровне установленных нормативных требований, и предназначена для широкого внедрения в практику работы лабораторий организаций, осуществляющих государственный санитарный надзор;

РАЗРАБОТАТЬ И ВНЕДРИТЬ МЕТРОЛОГИЧЕСКИ АТТЕСТОВАННЫЕ МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ ТУЙОНА В ПИЩЕВОЙ И ТАБАЧНОЙ ПРОДУКЦИИ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
РЕСПУБЛИКАНСКОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ «НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ»

СОГЛАСОВАНО
Директор
Могилевского ЦСМС
С.С. Денисенко
2023 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор государственного предприятия «НЦГП»
С.И. Сачук
2023 г.

Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь
МАССОВАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ТУЙОНА
В АЛКОГОЛЬНЫХ И БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКАХ
Методика измерений методом газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием
АМИ МГ 0008-2023

СОГЛАСОВАНО
Заместитель директора по лабораторному делу и развитию системы менеджмента качества государственного предприятия «НЦГП»
В.А. Шарамков
2023 г.

Разработчики:
Заведующий лабораторией химии пищевых продуктов
Ведущий научный сотрудник лаборатории химии пищевых продуктов
Ведущий химик лаборатории химии пищевых продуктов
Л.Л. Бельшева
Е.И. Полянский
О.Н. Тимофеева

Минск, 2023

Республиканское унитарное предприятие «Могилевский центр стандартизации, метрологии и сертификации»
ул. Белинского, 33 г. Могилев, 215011, тел. (0222) 72-04-31, факс (0222) 70-32-91
электронная почта: csms_mogilev@mogilev.by, <http://www.csms.by>
(полное наименование, место нахождения, телефон, факс, адрес электронной почты, адрес сайта уполномоченного юридического лица, проводящего аттестацию методики (метода) измерений)

Свидетельство
об аттестации методики (метода) измерений
№ 005/2023 от 21 «мая» 2023 г.

Массовая концентрация туйона в алкогольных и безалкогольных напитках.
Методика измерений методом газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием.

разработанная Республиканским унитарным предприятием «Научно-практический центр гигиены» ул. Академическая, 8, 220012, г. Минск, Республика Беларусь.

установленная АМИ МГ 0008-2023 «Массовая концентрация туйона в алкогольных и безалкогольных напитках. Методика измерений методом газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием».

аттестована в соответствии с требованиями Правил осуществления метрологической оценки в виде работ по аттестации методики (метода) измерений, утверждённых постановлением Государственного комитета по стандартизации Республики Беларусь от 23 апреля 2021 г. №43.

В результате аттестации методики измерений установлено, что методика измерений соответствует метрологическим требованиям к измерениям, а также сроку назначению.

Директор
С.С. Денисенко
(подпись, фамилия, инициалы)

Дата выдачи свидетельства об аттестации методики (метода) измерений
31 мая 2023 г.
Серия МГ № 005
(серия и порядковый номер)

Свидетельство об аттестации № 005/2023
от 31.05.2023

Рабочие характеристики и показатели точности определения массовой концентрации туйона в алкогольных напитках

Определяемый компонент	Диапазон измерений, мг/дм ³	Показатель повторяемости $s_r, \%$	Показатель промежуточной прецизионности $s_{l(ТО)}, \%$	Предел повторяемости $r, \%$	Предел промежуточной прецизионности $r_{l(ТО)}, \%$	Расширенная стандартная неопределенность измерения $U, \%$
α -Туйон	1,0-100,0	4,8	5,9	13,4	16,5	18,3
β -Туйон	1,0-100,0	4,9	5,8	13,7	16,2	18,1

Рабочие характеристики и показатели точности определения массовой концентрации туйона в безалкогольных напитках

Определяемый компонент	Диапазон измерений, мг/дм ³	Показатель повторяемости $s_r, \%$	Показатель промежуточной прецизионности $s_{l(ТО)}, \%$	Предел повторяемости $r, \%$	Предел промежуточной прецизионности $r_{l(ТО)}, \%$	Расширенная стандартная неопределенность измерения $U, \%$
α -Туйон	0,1-10,0	3,9	4,2	10,8	11,9	15,2
β -Туйон	0,1-10,0	3,8	4,4	10,7	12,4	16,3