

УДК 543.51:663.2
DOI 10.26456/vtchem2025.4.11

МОДИФИКАЦИЯ ПРОБОПОДГОТОВКИ ПРИ АНАЛИЗЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕТОДОМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОТНОШЕНИЯ ИЗОТОПОВ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

А.А. Мишутина¹, М.А. Феофанова¹, Е.В. Солопов²

¹ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», г. Москва

В статье представлены результаты исследования, направленного на оптимизацию пробоподготовки для определения изотопного соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в алкогольной продукции. Сравниваются традиционный метод дистилляции и современный парофазный метод с использованием автосемплера TurboMatrix Headspace. Показано, что парофазный метод обеспечивает более высокую точность и воспроизводимость результатов при значительном сокращении времени анализа.

Ключевые слова: изотопная масс-спектрометрия, пробоподготовка, фальсификация вин, $\delta^{13}\text{C}$.

Введение

Фальсификация алкогольной продукции остается серьезной проблемой, требующей разработки надежных методов контроля. В Российской Федерации в последние годы наблюдается значительный рост рынка винной продукции. Этот тренд сформировался после периода антиалкогольной кампании, которая привела к масштабной утрате виноградников, и обусловлен несколькими факторами. Во-первых, увеличились поставки готовой импортной винной продукции. Во-вторых, возросло производство вин на территории России как из импортных, так и из отечественных виноматериалов, которые разливаются на местных предприятиях.

Изотопный анализ углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ позволяет выявлять добавление невиноградных компонентов, но его точность зависит от этапа пробоподготовки. Метод изотопного соотношения углерода ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) является одним из наиболее надежных способов идентификации фальсификатов, поскольку он отражает природное происхождение сырья (например, различие между виноградным и свекловичным сахаром). Однако точность изотопного анализа сильно зависит от пробоподготовки, так как неправильная очистка и концентрирование

пробы могут привести к изотопному фракционированию и искажению результатов [1,2].

Целью работы является оптимизация метода пробоподготовки для изотопного анализа алкогольной продукции с целью повышения точности определения соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и сокращения времени пробоподготовки.

Методы и методики

Для определения отношения изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в спиртных напитках виноградного происхождения используются ГОСТ 32710-2014 и ФР.1.31.2020.37049 [3,4].

В данных нормативных документах нас интересует метод измерений, который основан на определении изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$) в анализируемой пробе этанола относительно международных стандартов методом масс-спектрометрии стабильных изотопов, основанном на измерении углерода $\delta^{13}\text{C}$ (m/z 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), m/z 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ и $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$), m/z 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$)), характерных для всех изотопных комбинаций элементов в газообразном диоксиде углерода (CO_2), образованном при полном сжигании в элементном анализаторе спирта этилового, полученного путем дистилляции, и в референтном газе CO_2 .

Пробоподготовка образца выполняется при помощи дистилляции. В колбу вместимостью 500 см³ помещают 250 см³ пробы и проводят экстракцию этанола при температуре не выше 78,5 °C. Собирают дистиллят при температуре (78,0-78,2) °C на установке для экстракции этанола. Если температура превышает 78,5 °C операцию останавливают на 5 минут. Когда температура снизится до 78,0 °C, снова продолжают отбор дистиллята до очередного повышения температура [4].

Полная дистилляция длится 5 часов. Такой способ позволяет рекуперировать до 98-98,5% общего спирта из пробы.

Использование классического способа выделения этанола из алкогольной продукции путем испарения с последующей конденсацией занимает продолжительное время и повышает вероятность испарения легкого изотопа ^{12}C быстрее, чем ^{13}C .

Для изотопного анализа критически важно минимизировать фракционирование изотопов углерода ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), которое может искажить результаты.

Обработка результатов измерений полученных отношений изотопов углерода ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) производят при помощи программного обеспечения масс-спектрометра в %, используя формулу:

$$X(\delta^{13}\text{C}) = \frac{R_{\text{проба}} - R_{\text{эт.}}}{R_{\text{эт.}}} \cdot 1000,$$

где $R_{\text{проба}}$ – отношения изотопов углерода ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) в пробе этанола;

$R_{\text{эт.}}$ – отношения изотопов углерода ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) в референтном газе CO_2 .

Для эксперимента используется масс-спектрометр IRMS с элементным анализатором и с парофазным автосемплером Delta V Advantage фирмы Thermo Fisher Scientific.

Подготовка к выполнению измерений. Прибор подготавливают к работе в соответствии с инструкцией по его эксплуатации. Устанавливаются следующие рабочие параметры:

- температура катализитического реактора анализатора - 1000°C;
- давление газа носителя (Не) в универсальном интерфейсе – 110 кПа (1,1 Бар);
- вакуум в источнике ионов масс-спектрометра не хуже – 0,16 Па ($1,6 \cdot 10^{-6}$ Бар);
- объем инъекции – 0,1 мкл.

Для проверки стабильности работы прибора проводят проверку стандартного отклонения повторяемости. Для проверки стандартного отклонения повторяемости изотопов углерода $\delta^{13}\text{C}$ референтный газ CO_2 из баллона подают через газовый интерфейс ConFlo-IV в ионный источник масс-спектрометра следующим образом: в течении 20 секунд газ подают, в течении 30 секунд – подачу газа прерывают. Эту процедуру повторяют в автоматическом режиме 10 раз, в результате чего получают последовательность из 10 импульсов тока для m/z 28 и m/z 30 масс.

При помощи ПО определяют значения $\delta^{13}\text{C}$ для каждого пика, оператор выбирает один из пиков в качестве стандартного, значение пика вводят в базу программного комплекса ISODAT. СКО $\delta^{13}\text{C}$ для всех 10 пиков не должно превышать 0,1%. При превышении 0,1% измерения повторяют.

Для анализа и сравнения были выбраны вина российского происхождения, так как методики основаны на анализе российских вин. Были отобраны три образца: Образец №1 сухое белое Фанагория Вино с защищенным географическим указанием «Кубань. Таманский полуостров» «5 ELEMENTS. Алиготе-Шардоне-Совиньон» 2019, Краснодарский край, ОАО "АПФ "Фанагория", Образец №2 сухое красное Фанагория Вино географического наименования «Каберне Фанагории. Номерной резерв» 2020, Краснодарский край, ОАО "АПФ "Фанагория", Образец №3 красное полусладкое «Голицынские вина» Вино ординарное 2022, Республика Крым, ООО "ЕВПАТОРИЙСКИЙ ЗАВОД КЛАССИЧЕСКИХ ВИН".

Для ускорения процесса пробоподготовки и для уменьшения вероятности изотопного фракционирования предлагается пробоподготовка с помощью парофазного автосемплера. Для использования такой установки понадобится парофазный автосемплер фирмы Perkin Elmer HeadSpace TurboMatrix 40 Trap.

Система TurboMatrix Headspace в связке с газовым хроматографом (ГХ) и изотопным масс-спектрометром (IRMS) обеспечивает высокоточный анализ соотношения изотопов углерода $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ в алкогольной продукции виноградного происхождения.

Процесс работы:

Шаг 1. Подготовка образца: Образец (например, вино) разбавляется в дистиллированной воде и помещается в герметичную виалу (20 мл). Виала герметично закупоривается крышкой с силиконовой/тэфлоновой мембраной.

Шаг 2. Термостатирование (Equilibration): Виала помещается в термостатируемую камеру при температуре 60°C для вина. Время термостатирования: 30 мин. В процессе нагрева летучие соединения (этанол, CO_2) переходят в газовую фазу. Устанавливается равновесие между жидкой и газовой фазами.

Шаг 3. Отбор газовой фазы (Sampling): После термостатирования игла пробоотборника прокалывает мембрану виалы. Газовая фаза аспирируется в дозирующую петлю (loop).

Шаг 4. Перенос пробы в ГХ (Transfer): Газ-носитель (He/N_2) транспортирует пробу через подогреваемую линию (120°C) в инжектор ГХ.

Шаг 5. Хроматографическое разделение (GC): Пробу вводят в капиллярную колонку (Wax) ГХ. Разделенные компоненты поступают в интерфейс ГХ-IRMS, где окислительный реактор превращает этанол в $3\text{CO}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$.

Шаг 6. Изотопный анализ (IRMS): В изотопном масс-спектрометре молекулы ионизируются. Ионы разделяются по массовому заряду (m/z). Измеряется отношение сигналов 45/44, которое пересчитывается в $\delta^{13}\text{C}$ относительно стандарта VPDB.

Ключевые особенности для анализа $\delta^{13}\text{C}$: минимизация изотопного фракционирования, закрытая система исключает контакт с воздухом, быстрый перенос пробы снижает риск селективного испарения легких изотопов.

PerkinElmer TurboMatrix Headspace – это оптимальное решение для анализа $\delta^{13}\text{C}$ в летучих соединениях благодаря: полной автоматизации (снижение человеческого фактора), высокой точности (минимальное фракционирование изотопов), гибкости (подходит для

вины, спиртов, соков, ферментированных продуктов). Применение Headspace вместе с ГХ-IRMS – дает мощный инструмент для контроля качества вина, выявления фальсификаций и подтверждения географического происхождения.

Результаты и обсуждение

Были проведены серии анализов на изотопном масс-спектрометре Delta V Advantage с двумя способами пробоподготовки. Результаты отношения изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ приведены в таблице 1.

Таблица 1.
Результаты анализов отношения изотопов углерода

№ об-ца	Метод пробоподгото- вки	Рез-т №1, ‰	Рез-т №2, ‰	Рез-т №3, ‰	Рез-т №4, ‰	Рез-т №5, ‰	Среднее значе- ние, ‰
Об-ц №1	Парофазный автосемплер	-28,645	-28,572	-28,597	-28,627	-28,697	-28,63
	Дистилляция	-28,565	-28,658	-28,408	-28,594	-28,425	-28,53
Об-ц №2	Парофазный автосемплер	-28,245	-28,362	-28,412	-28,301	-28,266	-28,32
	Дистилляция	-28,043	-27,961	-28,161	-28,188	-28,141	-28,10
Об-ц №3	Парофазный автосемплер	-27,115	-26,925	-27,010	-26,956	-27,076	-27,02
	Дистилляция	-26,717	-26,597	-26,806	-26,898	-26,934	-26,79

По результатам анализов можно сделать вывод, что значения отношений изотопов углерода по методам пробоподготовки отличаются незначительно и находятся в пределах погрешности.

Основные выводы:

Преимущества парофазного метода: обеспечивает более точные и воспроизводимые результаты; минимизирует изотопное фракционирование; позволяет получать данные, лучше соответствующие реальному изотопному составу образца.

Недостатки дистилляции: требует больше времени и трудозатрат; увеличивается погрешность результатов из-за человеческого фактора.

Кроме того, в случае кластера, расположенного в корне крупных ветвей, наблюдается процесс полной десорбции фенильного радикала в процессе торможения полимера средой. Такое явление возникает в следствии значительного взаимодействия молекул ароматического растворителя и ароматических звеньев полимера, что порождает усилия вязкого трения и давления среды на сами крупные ветви, порождающее

коллективное конформационной движение, стремящееся развести ветви в стороны. Это создаёт значительные усилия в области

Заключение

В рамках данной статьи была проведена комплексная работа по оптимизации пробоподготовки для изотопного анализа алкогольной продукции с целью повышения точности определения отношения изотопов углерода ($\delta^{13}\text{C}$) и сокращения времени анализа. Основные результаты и выводы исследования следующие:

Сравнение методов пробоподготовки: Дистилляция — это трудоемкий процесс до 5 часов. Погрешность измерений: $\pm 0.2\text{--}0.5\%$. Метод парофазного анализа (TurboMatrix Headspace): Автоматизированная и быстрая пробоподготовка (30–40 минут). Минимизация фракционирования изотопов благодаря закрытой системе.

Преимущества TurboMatrix Headspace. Сокращение времени анализа на 80%. Устранение человеческого фактора. Увеличение количества анализируемых проб.

Так же пробоподготовка с дистилляцией предполагает использование элементного анализатора, в котором замена колонки с молекулярными ситами необходима каждые 100 анализов из-за ее загрязнения. Это еще основной минус данного метода, при рутинном анализе.

Проведённое исследование подтвердило, что метод парофазного анализа с использованием TurboMatrix Headspace является более эффективным по сравнению с традиционной дистилляцией для определения изотопного состава углерода в алкогольной продукции.

Работа вносит вклад в развитие аналитических методов идентификации подлинности вин и соответствует актуальным требованиям рынка и регуляторных органов. Результаты диссертации могут быть рекомендованы к внедрению в лабораторную практику.

Список литературы:

1. Валуйко, Г.Г. О натуральности и фальсификации виноградных вин / Г.Г. Валуйко[и др.] // Виноградарство и виноделие. – 1995. – №2. – С. 46 – 55.
2. ГОСТ Р 51293-99 Идентификация продукции. Общие положения. / Госстандарт России. // М.: Стандартинформ. – 2008. – 7 с.
3. ГОСТ 32710-2014 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. ИДЕНТИФИКАЦИЯ. Метод определения отношения изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ спиртов и сахаров в винах и суслах. Общие положения. / Госстандарт России. // М.: Стандартинформ. – 2014. – 11 с.

4. ФР. 1.31.2020.37049 Методика измерений отношений изотопов углерода, кислорода и водорода этанола для выявления синтетического спирта в спиртных напитках виноградного происхождения и сырье для их производства методом изотопной масс-спектрометрии. Москва, 2020. – 17 с.

Об авторах:

МИШУТИНА Анна Александровна – магистр химико-технологического факультета, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» (170002, г. Тверь, Садовый пер., д.35); e-mail: lavrenteva123@inbox.ru

ФЕОФАНОВА Мариана Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры неорганической и аналитической химии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» (170002, г. Тверь, Садовый пер., д.35); e-mail: Feofanova.MA@tversu.ru

СОЛОПОВ Евгений Викторович – ведущий инженер отделения физико-химических методов исследования санитарно-гигиенический лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Москве» (129626, г. Москва, Графский переулок, д. 4 кор. 2,3,4); e-mail: hromass@rambler.ru

MODIFICATION OF SAMPLE PREPARATION IN THE ANALYSIS OF ALCOHOLIC PRODUCTS FOR IDENTIFICATION USING THE $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ISOTOPE RATIO METHOD

A.A. Mishutina¹, M.A. Feofanova¹, E.V. Solopov²

¹*Tver State University, Tver*

²*Federal Budgetary Healthcare Institution "Center for Hygiene and Epidemiology", Moscow*

The article presents the results of a study aimed at optimizing sample preparation for determining the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio in alcoholic products. A comparison is made between the traditional distillation method and the modern headspace method using a TurboMatrix Headspace autosampler. It is shown that the headspace method provides higher accuracy and reproducibility of results while significantly reducing analysis time.

Keywords: isotope ratio mass spectrometry, sample preparation, wine adulteration, $\delta^{13}\text{C}$.

Дата поступления в редакцию: 09.10.2025.

Дата принятия в печать: 16.10.2025.