УДК/UDC 663.3 DOI: 10.21323/978-5-6041190-3-7-2018-2-111-115

Панасюк А.Л., д.т.н., проф., Кузьмина Е.И., к.т.н., Харламова Л.Н., к.т.н., Шилкин А.А.
ВНИИПБиВП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
(Россия, г. Москва)

ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ИЗОТОПНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

Аннотация. Установление подлинности пищевых продуктов – одна из главных задач, стоящих перед специалистами отрасли. Существующие в настоящее время современные инструментальные методы анализа не всегда могут дать объективный ответ на вопросы о природе и географическом месте происхождения сырья и произведенных из него продуктов. В настоящее время для идентификации сырья и установления подлинности продукции большое внимание уделяется изучению изотопных характеристик химических элементов. Метод изотопной масс-спектрометрии основан на измерении отношений стабильных изотопов химического элемента вещества. В статье описаны этапы фотосинтеза растений, являющиеся основой формирования изотопного состава углерода, кислорода и водорода в растительном сырье и продуктах его переработки. Изотопные характеристики углерода дают информацию о природе сырья. Приведены теоретические аспекты фракционирования изотопов кислорода и водорода атмосферных осадков. Измеряя отношения кислорода и водорода водной компоненты, можно судить о географическом происхождении сельскохозяйственного сырья и произведенной из него пищевой продукции. Описан способ измерения изотопных характеристик углерода на уровне внутримолекулярных изотопных неоднородностей с получением трех значений показателя $\delta^{13}C$ для одной молекулы органической кислоты.

Ключевые слова: стабильные изотопы легких элементов, изотопная масс-спектрометрия, изотопные характеристики, отношения изотопов стабильных элементов, фракционирование изотопов легких элементов.

A.L. Panasyuk, Doctor of Technical Science, Professor, E.I. Kuzmina, Candidate of Technical Science, L.N. Kharlamova, Candidate of Technical Science, A.A. Shilkin
All-Russian Scientific Research Institute of the Brewing, Non-Alcoholic and Wine Industry - Branch of the V.M. Gorbatov Federal Research Center of Food Systems of RAS, Moscow, Russia

APPLICATIONS OF ISOTOPE MASS SPECTROMETRY METHOD FOR FOOD PRODUCTION IDENTIFICATION

Annotation. Establishment of food products authenticity is one of the main tasks facing before the industry specialists. Presently existing modern instrumental methods of analysis can not always give an objective answer to questions about the nature and geographical origin of raw materials and products derived from it. At present, much attention is paid to the isotopic characteristics of chemical elements for the identification of raw materials and the establishment of the products authenticity. The method of isotope mass spectrometry is based on measuring the ratio of stable isotopes of a chemical element of matter. The article describes the stages of photosynthesis of plants, which are the basis for the formation of the carbon isotope composition, oxygen and hydrogen in vegetable raw materials and products of its processing. Isotope characteristics of carbon give information about the raw materials nature. Given theoretical aspects of atmospheric precipitation oxygen and hydrogen isotopes fractionation. By measuring the ratio of oxygen and hydrogen to the

water component, one can judge the geographical origin of agricultural raw materials and food products produced from it. Described a method for measuring carbon isotopic characteristics at the level of intramolecular isotope inhomogeneities, obtaining three values of the $\delta^{13}C$ index for one organic acid molecule.

Key words: stable isotopes of light elements, isotope mass spectrometry, isotopic characteristics, isotope ratios of stable elements, fractionation of light elements isotopes.

Пищевая продукция, как правило, по физико-химическим показателям и показателям безопасности всегда соответствует требованиям действующих стандартов, но при этом, она может представлять собой фальсификат. При этом фальсификат может быть приготовлен как из пищевого, но не предусмотренного нормативно-технической документацией сырья, так и путем добавления соединений, запрещенных к использованию в производстве продуктов питания, в том числе, полученных путем химического синтеза. Еще одним распространенным способом фальсификации, особенно в последнее время, является неверное указание страны или места, где был произведен товар. Это особенно важно для продуктов с защищенным наименованием места происхождения.

Сегодня существует множество высокочувствительных инструментальных методов, позволяющих провести точный и объективный анализ химического состава любого продукта. Но не все используемые методы могут дать нам информацию о природе сырья, из которого изготовлен продукт, и тем более, о месте его происхождения.

В настоящее время для идентификации сырья и установления подлинности продукции все больше внимания уделяется изучению их изотопного состава. Изотопные отношения являются важными показателями во множестве областей деятельности человека и позволяют дать ответы на самые различные вопросы, начиная от контроля качества ядерного топлива и определения возраста пород для геологии, и заканчивая установлением подлинности продукции и определением места происхождения товаров и сырья. [1-3]

Метод изотопной масс-спектрометрии основан на измерении отношений стабильных изотопов химического элемента вещества. Большинство элементов, составляющих органическое вещество живых систем, так называемые биофильные элементы, являются полиизотопными и содержат «легкие», составляющие основную часть элемента, и «тяжелые» -минорная их часть- изотопные атомы (углерод ^{12}C и ^{13}C, кислород ^{16}O и ^{18}O, протон и дейтерий и т.д.). Высокоточные измерения отношений природных распространенностей соответствующих пар стабильных изотопов, например ^{13}C /^{12}C, показали, что вещества химически идентичные, но полученные разными путями, имеют значимые различия величин изотопных отношений.

Основным механизмом образования органических соединений на земле является фотосинтез. Согласно современным представлениям процесс фотосинтеза состоит из трех этапов. [4]

Первые два этапа проходят при участии световой энергии. Первый заключается в происходящем при участии хлорофилла процессе фотохимического разложения воды и сопровождается выделением молекулярного кислорода. Второй этап состоит из ряда окислительно-восстановительных реакций, в которых помимо хлорофилла принимают участие цитохромы и другие переносчики электронов.

Третий, темновой этап фотосинтеза, сопровождается ассимиляцией диоксида углерода. У растений отдельных групп он проходит по-разному. У одних растений процесс фотодыхания характеризуется усилением оксигеназной активности рибулозодифосфат-карбоксилазы/оксигеназы и окислением рибулозодифосфата до фосфоглицериновой кислоты. У других растений в процессе фотосинтетической фиксации углекислого газа, особо важную роль играет фермент фосфоенолпируваткарбоксилаза, синтезирующая из фосфоенолпирувата, углекислого газа и воды щавелевоуксусную кислоту.

Растения, у которых первым продуктом фиксации диоксида углерода является фосфоглицериновая кислота, принято называть растениями С3-типа, а те, у которых первичный

продукт – щавелевоуксусная кислота – С4- типа растениями. Фосфоглицериновая и щевелевоуксусная кислоты – это промежуточные соединения на пути образования углеводов. Углеводы имеют распределение изотопов углерода согласно типам растений и характеризуются определенными изотопными характеристиками. Продукты переработки наследуют эти величины, что, собственно, и является ключом к установлению природы растительного сырья.

К растениям, с C_4 - типом ассимиляции CO_2 относят кукурузу, сахарный тростник, сорго и некоторые виды проса.

С3-растения – самая многочисленная группа, к ней относится большинство растений планеты, в том числе, виноград и сахарная свекла.

Измерение отношений стабильных изотопов углерода $^{13}C/^{12}C$ дает нам возможность определить природу сырья**,** используемого при производстве продукта. Однако, этот метод не позволяет изучить изотопный состав воды, содержащейся в продукте, поскольку вода, как известно, состоит только из атомов кислорода и водорода. Измерение отношений этих химических элементов также широко используется для идентификации пищевой продукции.

Всем живым организмам на Земле нужна вода. В процессе роста и развития растения и животные потребляют природную воду своего региона. При этом, воды различных географических зон имеют значительные отличия в изотопном составе кислорода и водорода. [5]

Испарение воды с поверхности Земли происходит повсеместно; при этом большая часть влаги испаряется из Мирового океана. Водяной пар поднимается в высокие слои атмосферы, охлаждается и, конденсируясь, выпадает в виде осадков. Другая, меньшая часть водяного пара вместе с воздухом уходит в высокие широты, где происходит аналогичный цикл. При этом конденсат, выпадающий в виде атмосферных осадков, отличается более высоким уровнем тяжелых изотопов кислорода и водорода. По мере удаления от поверхности океана происходит фракционирование изотопов и внутри континента атмосферные осадки легче, чем первичные осадки, выпадающие на границе сред земля-вода. Закономерности пространственно-временного распределения изотопного состава природных вод являются основой интерпретации изотопных данных, характеризующих глобальный и региональный водообмен.

Исследования, проводимые в данном направлении, ясно показали, что между изотопными отношениями кислорода и водорода воды, потребляемой растениями и животными, и соответствующими показателями водной компоненты полученных из них же продуктов, наблюдается значительная корреляция. Таким образом, измеряя отношения кислорода и водорода водной компоненты, можно судить о географическом происхождении сельскохозяйственного сырья и произведенной из него пищевой продукции.

При изучении изотопных отношений объектов рассматривают отношения «тяжелых» изотопов к «легким» - углерода ^{13}C к углероду ^{12}C, кислорода $^{18}0$ к кислороду $^{16}0$, дейтерия к протону и т.д. Их рассчитывают как отношение разницы концентраций изотопа в объекте и стандарте к концентрации его в стандарте. Обозначают как $\delta^{13}C$, в данном случае, и измеряют в промилле (‰).

$$\delta^{13}C_{VPDB} = \frac{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{проба} - \left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{VPDB}}{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{VPDB}} \cdot 1000 \qquad (1)$$

где $\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{VPDB}$ – изотопное отношение углерода с массами 13 и 12 в международном стандарте, равное 0,0112372; $\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{проба}$ - изотопное отношение углерода с массами 13 и 12 в анализируемой пробе, ‰.

С 2008 года ВНИИПБиВП совместно с Институтом биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН проводит работы по идентификации пищевой продукции с использованием метода изотопной масс-спектрометрии. В институте постоянно проводятся исследования по созданию комплексной системы идентификации пищевой продукции. Исследования направлены на выявление корреляционных изотопных зависимостей и установление на их основе идентификационных диапазонов изотопных характеристик легких элементов для отдельных видов пищевой продукции. Использование изотопных отношений углерода, кислорода и водорода этанола и водной компоненты винодельческой продукции позволяет с высокой степень достоверности установить подлинность продукции, а также географическое место ее происхождения.

Виноград относится к С3- типу растений с ярко выраженным изотопным эффектом и достаточно узким диапазоном изотопных отношений углерода. Углеводы винограда и полученные из них спирты имеют изотопные характеристики углерода, входящие в диапазон от минус 26 до минус 29 промилле. Идентификацию винодельческой продукции проводят в соответствии с указанным диапазоном отношений изотопов углерода.

В ряде случаев при производстве соков и сокосодержащих напитков недобросовестные производители несанкционировано используют сахар, воду, а также запрещенные химические соединения.

Для подкисления соков и вин разрешено использование в определенных количествах винной, яблочной, молочной и лимонной кислот биогенного происхождения, применение синтетических органических кислот запрещено. Химические методы не позволяют отличить биогенные кислоты от абиогенных. С целью обнаружения в соках и сокосодержащих напитках синтетических органических кислот был предложен способ измерения изотопных характеристик углерода на уровне внутримолекулярных изотопных неоднородностей с получением трех значений показателя $\delta^{13}C$ для одной молекулы органической кислоты - суммарный углерод $^{13}C_{ок}$, углерод её карбоксильных групп и углерод алкильных групп.

Метод измерения изотопных отношений углерода широко применяется для установления природы сырья, используемого при производстве сахара, с целью выявления фальсифицированной продукции.

Для идентификации меда и растительных масел проводят измерение изотопных отношений углерода. Основой интерпретации полученных значений служат изотопные отношения углерода органических соединений растительного сырья, из которого получают указанные виды пищевой продукции.

Одним из способов фальсификации минеральных вод является недостоверное указание источника. На рынок поступают минеральные воды с указанием несуществующего источника либо с указанием источника, который не входит в Реестр месторождений. У природных минеральных вод баланс микро- и макроэлементов определяется природным происхождением и недостоверное указание наименования воды, в основу которого заложено ее место происхождения, особенно, лечебной минеральной воды, не только вводит потребителей в заблуждение, но может и навредить здоровью.

В основе идентификации минеральных вод лежит принцип специфичности и постоянства химического состава. Но проведение только сравнительного химического анализа не позволяет установить место происхождения воды. Наиболее перспективным методом для решения этой задачи является масс-спектрометрический метод определения изотопного состава кислорода и водорода.

Сегодня в мировой практике для идентификации мяса и мясных продуктов используют, в основном, изотопные отношения четырех элементов – углерода, азота, кислорода и водорода. Изотопные характеристики углерода и азота специалисты используют для определения кормовой диеты, а кислорода и водорода – для установления географического происхождения.

Список литературы

1. Oganesyants L. A., Panasyuk A.L., Kuzmina E.I., Zyakun A.M. The distribution of stable isotopes of the carbon in plants of grape and wine according to climate factors of district // Food Proccessing Industry. 2013. № 1. P.12-15.
2. Oganesyants L.A., Panasyuk A.L., Kuzmina E.I., Zyakun A.M Mass spectrometric analysis of the $^{13}C/^{12}C$ abundance ratios in vine plants and wines depending on regional climate factors (Krasnodar krai and Rostov oblast, Russia) // Journal of Analytical Chemistry. 2013. Vol.68, № 13, P.1136–1141.
3. Оганесянц Л.А., Панасюк А.Л., Кузьмина Е.И., Зякун А.М. Изотопные характеристики этанола вин из российского винограда // Виноделие и виноградарство.2015. № 4. С.8-12.
4. Галимов, Э. М. Природа биологического фракционирования изотопов. — М.: Наука, 1981. — 247 с.
5. Зякун, А.М. Теоретические основы изотопной масс-спектрометрии в биологии. — г.Пущино Московской области:Фотон-век, 2010. — 220 с.