



О. Г. Совастей
(O. G. Sovastey)



В. Г. Лугин
(V. G. Luhin)



И. В. Войтов
(I. V. Voitov)

УДК 543.645: 343.983.4

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИДЕНТИФИКАЦИИ ОБЪЕКТОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПО ЖИРНОКИСЛОТНОМУ СОСТАВУ

(ANALYTICAL APPROACHES TO IDENTIFICATION
OF OBJECTS OF BIOLOGICAL ORIGIN
BY FATTY ACID COMPOSITION)

В статье показана возможность применения сведений о жирнокислотном составе для установления видовой принадлежности жировой продукции. Приведены результаты по исследованию жирнокислотного состава растительных масел, жиров животного происхождения и лососевых рыб. Показана высокая информативность и специфичность метода определения жирнокислотного состава, которая позволяет его использовать для идентификации объектов биологического происхождения и жировых следов как в судебной экспертизе пищевых продуктов, так и в криминалистической экспертизе.

Ключевые слова: жирнокислотный состав; липиды; идентификация; растительное масло; жир животного происхождения; жир лососевых рыб; видовая принадлежность

В связи с многочисленными фактами фальсификации продуктов питания уделяется большое внимание разработке и практическому применению современных методов идентификации и контроля качества пищевого сырья и готовой продукции. Существующие в настоящее время методы определения качества и подлинности продуктов питания не всегда обеспечивают получение достоверных результатов, поэтому необходима разработка новых методов анализа качества пищевой продукции.

В зависимости от подделки той или иной характеристики товара выделяется несколько видов фальсификации: ассортиментная (видовая), качественная, количественная, стоимостная, информационная.

Ассортиментная (видовая) фальсификация осуществляется путем полной или частичной замены товара его заменителем с сохранением сходства одного или нескольких признаков.

Мясо и мясные товары достаточно часто подвергаются ассортиментной фальсификации. Ассортиментная фальсификация мяса связана с подменой одного вида мяса другим, менее ценным видом. Например, частичная замена в полуфабрикатах говядины и баранины на свинину, свинины и кролика на курицу.

Совастей Ольга Григорьевна, научный сотрудник Центра физико-химических методов исследования Белорусского государственного технологического университета (Беларусь, 220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а; e-mail: center@belstu.by; тел.: +375173278132)

Лугин Валерий Геннадьевич, директор Центра физико-химических методов исследования Белорусского государственного технологического университета (Беларусь, 220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а; e-mail: luhin_valery@mail.ru; тел.: +375173278132), кандидат химических наук, доцент

Войтов Игорь Витальевич, ректор Белорусского государственного технологического университета (Беларусь, 220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а; e-mail: rector@belstu.by; тел.: +375172261432), доктор технических наук, профессор

Olga G. Sovastey, Centre for Physical and Chemical Investigation Methods of Belarusian State Technological University (Minsk, Belarus)

Valery G. Luhin, Centre for Physical and Chemical Investigation Methods of Belarusian State Technological University (Minsk, Belarus), Ph. D. in Chemistry, Associate Professor

Igor V. Voitov, Belarusian State Technological University (Minsk, Belarus), Doctor of Technical Sciences, Professor

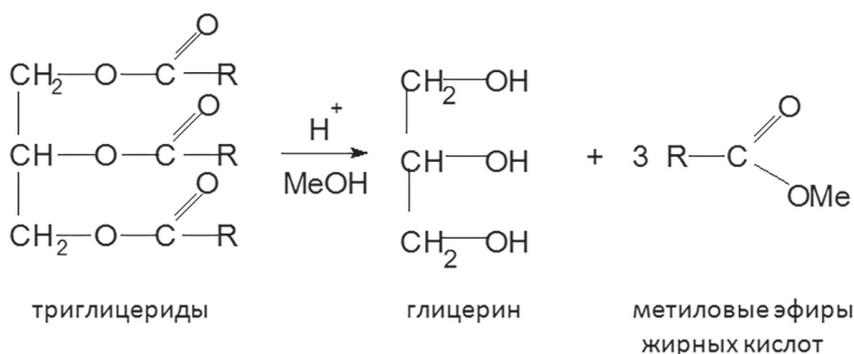


Рисунок 1. Химические основы методики

Среди наиболее распространенных способов фальсификации рыбы и рыбных товаров также можно выделить видовую фальсификацию: выдача менее ценных видов рыбы за более ценные (например, горбушу – за кету, форель – за семгу и т. д.), особенно это актуально в полуфабрикатах и продуктах переработки рыб, когда теряются внешние признаки, отвечающие за видовую принадлежность.

Из растительных масел наиболее часто ассортиментной фальсификации подвергается оливковое масло как наиболее дорогой вид, пользующийся популярностью благодаря повышенной биологической эффективности. Его заменяют целиком или частично более дешевыми рафинированными маслами: соевым, рапсовым, подсолнечным.

В Республике Беларусь и других странах Содружества Независимых Государств не выработаны однозначные критерии оценки подлинности и качества как лососевых рыб, так и некоторой мясной продукции. В связи с этим нами предпринята попытка разработать такие критерии на основании анализа жирнокислотного состава жира рыбных и мясных продуктов, а также растительных масел как наиболее часто фальсифицируемых товаров.

Известно, что состав и изомерия жирных кислот в составе липидов являются генетически детерминированными и обуславливают видовую принадлежность растительного сырья, мясных и рыбных продуктов. Жирные кислоты являются своего рода биологическим маркером, который позволяет с большой долей вероятности определить принадлежность жира к определенному типу в силу их специфичности [1-3].

Жирные кислоты – это алифатические карбоновые кислоты с числом углеродных атомов C_4-C_{22} . Они могут содержать в своей структуре одну или несколько двойных связей и в связи с этим классифицируются на насыщенные и ненасыщенные. Указанные кислоты являются основной составной частью жиров животного и растительного происхождения.

Химическое строение пищевых жиров представлено смесью триглицеридов $ROCH_2CH(OR)CH_2OR$,

где R – остаток жирной кислоты. Соотношение жирных кислот – один из показателей биологической и соответственно пищевой ценности жиров. Хроматографический анализ состава R-жирных кислот позволяет оценить происхождение и качество жиров.

Жирнокислотный состав триглицеридов является одним из наиболее достоверных и трудно фальсифицируемых показателей ассортимента характеристики пищевых жиров разных подгрупп и видов. Индивидуальность жирнокислотного состава делает его удобным инструментом контроля качества и подлинности мясных, рыбных продуктов, а также растительных масел.

Высокая информативность и специфичность жирнокислотного состава также позволяет использовать его для идентификации объектов биологического происхождения и жировых следов как в судебной экспертизе пищевых продуктов, так и в криминалистической экспертизе.

Материалы и методы

Экстракцию и определение жирных кислот осуществляли по модифицированному нами методу R. W. Welch [4]. Навески образцов масел или жиров помещали в раствор 2% серной кислоты в абсолютном метаноле, содержащем маргариновую кислоту в качестве внутреннего стандарта. Запаянные в ампулах образцы подвергали гидролизу при $80^\circ C$ для получения метиловых эфиров жирных кислот (рисунок 1).

Метиловые эфиры жирных кислот экстрагировали гексаном и определяли методом газожидкостной хроматографии на приборе Hewlett-Packard 4890 D, оснащенный пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой HP-Innowax 0,32 мм×30 м с размером носителя 0,5 мкм (полиэтилен гликоль). Анализ проводили при скорости потока гелия $26 \text{ см}^3/\text{с}$; температуре колонки $220^\circ C$, инжектора и детектора – $250^\circ C$. Объем анализируемой пробы – 1 мкл. Индивидуальные жирные кислоты идентифицировали по времени удерживания при разделении стандартных смесей метиловых эфиров этих кислот (SupelcoPark, USA) и оценивали в процентах от их общего содержания.

При анализе жирных кислот рыбных продуктов предварительно проводили экстракцию липидов смесью изопропиловый спирт : гексан = 1:1 методом горячей экстракции в аппарате Сокслета. Растворитель упаривали досуха на ротационном испарителе, а затем уже полученные масла подвергали метанолизу в кислой среде в присутствии внутреннего стандарта – маргариновой кислоты.

Таблица 1. Содержание жирных кислот в масле различных сельскохозяйственных культур

Виды масла	Содержание жирных кислот, %				
	C _{16:0} (пальмитиновая)	C _{18:0} (стеариновая)	C _{18:1} cis (олеиновая)	C _{18:2} (линолевая)	C _{18:3} (линоленовая)
Подсолнечное	5,32-6,51	4,27-4,98	24,85-27,11	54,55-57,45	0,01-0,05
Оливковое	9,54-9,91	2,52-3,13	69,23-75,54	9,61-11,55	0,45-0,64
Соевое	13,52-15,01	4,22-5,69	21,15-25,21	48,64-51,65	7,14-8,96
Льняное	5,89-6,33	3,15-3,87	14,02-16,36	57,06-59,19	10,28-12,85
Рапсовое	4,02-4,57	2,11-2,19	62,12-66,08	17,98-20,51	6,53-9,03

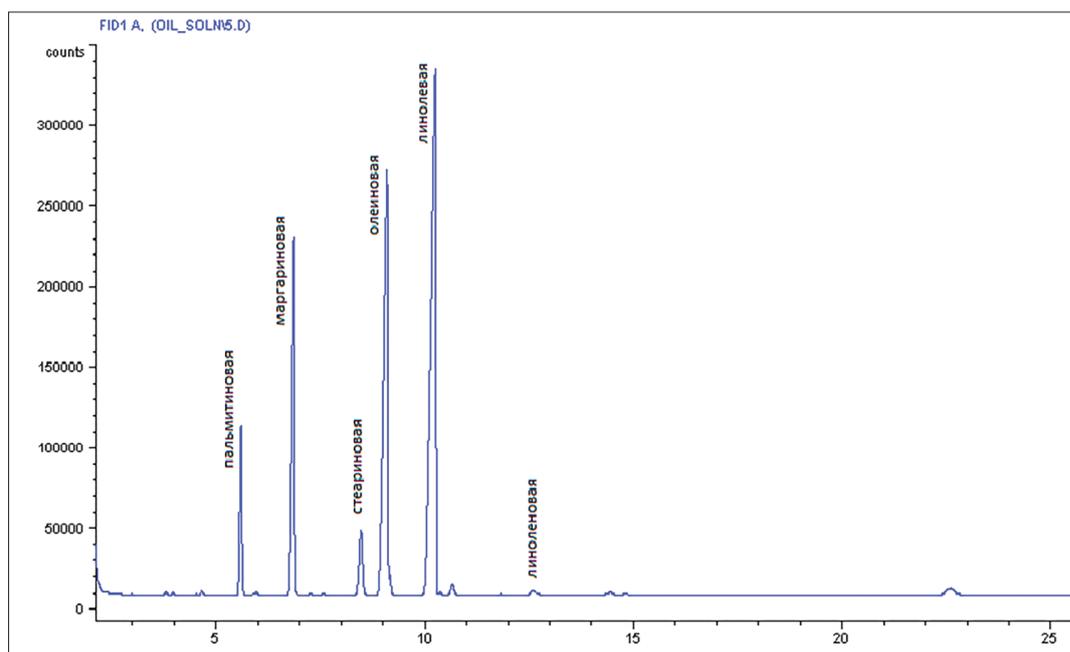


Рисунок 2. Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот оливкового масла

Растительные масла отличаются, как правило, повышенным содержанием непредельных жирных кислот, что определяет их жидкую консистенцию и хорошую усвояемость. Исключение составляет лишь небольшое количество твердых растительных жиров (какао-масло, кокосовое и пальмоядровое масла). Для каждого вида растительных масел характерен уникальный жирнокислотный состав, что служит важным идентифицирующим признаком [1].

В качестве материала для исследований были использованы подсолнечное, кукурузное, соевое, льняное и рапсовое масла различных производителей.

Результаты газохроматографического анализа представлены в таблице 1. На рисунке 2 приведена хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот оливкового масла. Установлено, что олеи-

новая кислота является преобладающей жирной кислотой оливкового и рапсового масла (62-75%), а линолевая – подсолнечного, соевого и льняного (48-59%). Низкое содержание линоленовой кислоты отмечается в подсолнечном масле, а повышенное содержание – в льняном. Соевое масло отличается высоким содержанием пальмитиновой кислоты. Для всех жидких растительных масел характерно преобладание ненасыщенных жирных кислот (81-92%) над насыщенными (6-21%).

Жиры животные представляют собой природные продукты, которые получают из жировых тканей животных. При преобладании насыщенных кислот имеют твердую консистенцию и сравнительно высокую температуру плавления [цит. по 2].

Объектами исследования служили внутренний говяжий, куриный, свиной, бараний и кроличий жиры.

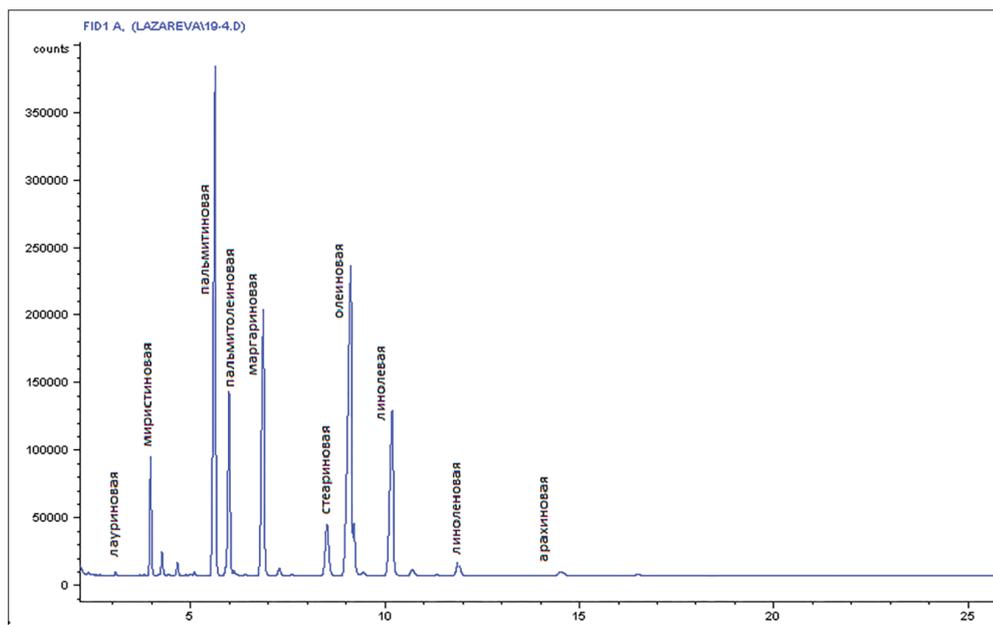


Рисунок 3. Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот кроличьего жира

Таблица 2. Содержание жирных кислот в жирах животного происхождения

Вид жира	Содержание жирных кислот, %									
	C _{12:0} (лауриновая)	C _{14:0} (миристиновая)	C _{16:0} (пальмитиновая)	C _{18:0} (стеариновая)	C _{20:0} (арахиновая)	C _{16:1} (пальмитолеиновая)	C _{18:1 cis} (олеиновая)	C _{18:2} (линолевая)	C _{18:3} (линоленовая)	C _{20:4} (арахидоновая)
Говяжий	0,30-0,49	1,51-1,58	28,00-29,21	19,17-22,41	-	3,01-3,24	34,35-39,75	2,01-2,26	0,47-0,58	0,45-0,48
Куриный	0,09-0,11	0,78-0,81	23,79-25,01	5,27-8,12	-	4,50-5,89	36,55-40,40	18,54-20,35	0,09-0,23	0,07-0,08
Свиной	0,05-0,07	1,10-1,17	23,24-25,56	15,31-17,23	0,29-0,34	1,25-1,98	34,11-36,12	11,75-14,11	0,42-0,45	0,47-0,48
Бараний	0,48-0,51	5,85-6,90	24,21-29,53	17,85-21,10	0,27-0,31	2,00-2,65	30,45-32,70	1,59-1,61	0,78-0,91	0,50-0,52
Кроличий	0,68-0,71	2,68-4,15	25,70-28,56	4,85-6,50	0,9-0,11	7,95-9,10	30,04-32,04	12,10-14,89	1,26-1,27	0,55-0,56

В качестве примера на рисунке 3 представлена хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот кроличьего жира. Результаты газохроматографического анализа приведены в таблице 2.

Во всех исследуемых в рамках данной работы животных жирах содержится примерно одинаковое содержание пальмитиновой и олеиновой кислот. Говяжий и бараний жир отличаются низким количеством линолевой кислоты, но при этом в бараньем жире повышенное содержание миристиновой кислоты, а говяжьем – стеариновой (по сравнению с другими животными жирами).

В курином и говяжьем жире отсутствует арахидиновая кислота.

Лососевые рыбы являются ценным источником белков, ненасыщенных жирных кислот, каротиноидов и витаминов. Особенно ценны они высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, таких как стеаридоновая, эйкозопентаеновая, докозагексаеновая. Именно этим жирным кислотам приписывают основные функции в защите организма человека от сердечно-сосудистых, онкологических и других заболеваний. Содержание этих ω3-жирных кислот сильно различается в зависимости от вида рыбы, места обитания, рациона питания, размеров, возраста, пола и участка тела, используемого для анализа. Тем не менее видовую принадлежность необходимо идентифицировать в

связи с разной пищевой ценностью и стоимостью мяса рыб разных видов.

В работе использовали фрагменты тел горбуши, кеты, форели и семги, взятые вблизи передних плавников от рыб примерно одинаковой массы (около 1 кг). На рисунке 4 представлена хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот из липидов горбуши. Результаты газохроматографического анализа приведены в таблице 3.

Как видно из представленных результатов, липиды рыб богаты полиненасыщенными жир-

ными кислотами, в первую очередь эйкозопентаеновой и докозагексаеновой.

Вакценовая кислота является маркером, по которому идентифицируемый образец можно однозначно отнести к одной из двух групп рыб: горбуша-кета (кислота отсутствует) либо форель-семга (кислота присутствует), причем у семги ее содержание значительно выше, чем у форели. Мясо семги отличается значительно более высоким содержанием цис-олеиновой и линоленовой, а также существенно пониженным содержанием

Таблица 3. Жирнокислотный состав липидов лососевых рыб

Жирная кислота	Название рыбы			
	Горбуша	Кета	Форель	Семга
	Содержание жирных кислот, %			
C _{14:0} (миристиновая)	4,14-4,75	6,23-8,39	4,44-5,12	3,67-4,66
C _{16:0} (пальмитиновая)	12,69-13,78	11,68-13,14	15,06-15,68	11,35-12,75
C _{16:1} (пальмитолеиновая)	6,11-6,74	3,58-4,65	7,15-8,06	4,86-5,51
C _{18:0} (стеариновая)	2,01-2,83	3,13-4,21	2,85-3,56	2,65-2,93
C _{18:1} (цис-олеиновая)	10,77-11,58	16,69-18,11	16,47-17,67	24,01-24,98
C _{18:1} (транс-элаидиновая)	2,99-3,55	1,52-1,63	3,24-4,00	3,16-3,82
C _{18:1} ω7 (вакценовая)	-	-	3,41-4,08	7,25-9,01
C _{18:2} ω6 (линолевая)	0,69-0,73	0,86-0,91	1,61-1,72	1,42-1,67
C _{18:3} ω3 (линоленовая)	0,88-0,89	0,81-0,85	0,85-1,14	2,21-2,54
C _{18:4} ω3 (стеаридоновая)	1,87-2,14	0,89-0,92	0,96-1,45	0,91-0,97
C _{20:1} ω11 (цис-гадолеиновая)	5,88-6,98	3,99-4,87	6,12-6,83	8,11-8,75
C _{20:1} ω11 (транс-гадолеиновая)	2,56-3,78	2,63-3,97	0,31-0,37	0,42-0,46
C _{22:0} (бегеновая)	6,02-7,13	5,76-6,58	5,74-6,52	3,24-3,94
C _{22:1} ω9 (цис-гондоевая)	10,68-12,32	5,04-5,11	4,41-5,23	5,25-6,42
C _{22:1} ω9 (транс-гондоевая)	1,50-1,91	6,03-6,31	0,64-0,71	0,81-0,95
C _{20:5} ω3 (эйкозопентаеновая)	1,98-2,25	1,82-2,00	2,24-2,58	1,69-1,81
C _{22:6} ω3 (докозагексаеновая)	7,86-8,57	7,96-8,88	9,75-10,24	5,14-5,78

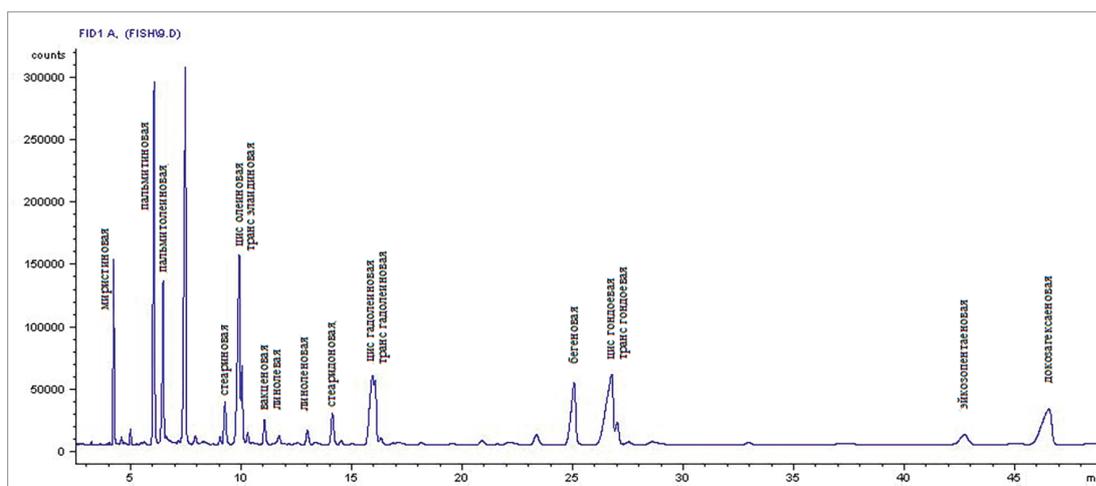


Рисунок 4. Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот из липидов горбуши

бегеновой и докозагексаеновой жирных кислот. Мясо горбуши отличается значительно более высоким содержанием цис-гондоевой, а также существенно пониженным содержанием цис-олеиновой жирных кислот. Мясо кеты выделяется значительно более высоким содержанием транс-гондоевой жирной кислоты.

Животные жиры имеют твердую (говяжий, бараний) или мажеобразную консистенцию (куриный, свиной, кроличий), а растительные масла (за исключением кокосового и т. п.) и рыбий жир – жидкую. Это обусловлено тем, что растительные масла, как правило, содержат повышенное количество непредельных жирных кислот, а животный жир – насыщенных. Животный жир отличается наличием арахидоновой кислоты, тогда как в растительных маслах она практически отсутствует. Рыбий жир содержит большое количество ненасыщенных жирных кислот, в первую очередь эйкозапентаеновой и докозагексаеновой.

В результате проведенной работы показана возможность использования идентификации жировых следов и объектов биологического происхождения по жирнокислотному составу в криминалистической экспертизе и в судебной экспертизе пищевых продуктов. Данный метод отличается

высокой информативностью, специфичностью и достоверностью, а также возможностью анализировать малые количества вещества.

Полученные данные также можно использовать при идентификации малых количеств остатков жировых продуктов, масляных пятен на различных поверхностях и тканях. В данном случае предварительной пробоподготовкой является смыв жировых остатков гексаном, эфиром, бензолом, хлороформом и другими неполярными и малополярными органическими растворителями.

Затем растворитель выпаривают под вакуумом, сухой остаток подвергают метанолизу и дальнейшему хроматографированию. По полученному жирнокислотному составу судят о принадлежности образца к тому либо иному виду объекта животного или растительного происхождения.

Описанные в данной работе аналитические подходы к идентификации объектов по жирнокислотному составу могут быть использованы для разработки нормативных документов, методик и однозначных критериев оценки подлинности и качества пищевой продукции, а также для получения криминалистически значимой информации при исследовании следов биологического происхождения.

Список литературы

1. Титок, В. В. Современные инструментальные методы анализа льнопродукции / В. В. Титок, В. Н. Леонтьев, В. Г. Лугин. - Минск: БГТУ, 2011. - 270 с.
2. Игнатовец, О. С. Идентификация животного жира по жирнокислотному составу / О. С. Игнатовец, О. Г. Лазарева, В. Н. Леонтьев // Труды БГУ. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. - 2006. - Вып. 1. - С. 257-260.
3. Идентификация лососевых рыб / В. Н. Леонтьев [и др.] // Труды БГУ. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. - 2006. - Вып. 1. - С. 260-264.
4. Welch R. W. A micro-method for the estimation of oil component and composition in seed crops // J. Sci. Food Agr. - 1977. - Vol. 28. - P. 635-638.

References

1. Titok V. V., Leontiev V. N., Luhn V. G. Sovremennye instrumental'nye metody analiza l'noпродукции [Modern instrumental methods for the analysis of flax products]. Minsk: BSTU. 2011. 270 p. (Russian).
2. Ignatovets O. S., Lazareva O. G., Leontiev V. N. Identifikacija zhivotnogo zhira po zhirkokislotnomu sostavu [Identification of animal fat by fatty acid composition]. Trudy BGU. Fiziologicheskie, biohimicheskie i molekularnye osnovy funkcionirovaniya biosistem. 2006. Vol. 1. pp. 257-260. (Russian).
3. Leontiev V. N., Kurchenko V. P., Laykovskaya I. V., Fedorenko I. V., Ignatovets O. S., Gavrilenko N. V. Identifikacija lososevyh ryb [Identification of salmon fishes]. Trudy BGU. Fiziologicheskie, biohimicheskie i molekularnye osnovy funkcionirovaniya biosistem. 2006. Vol. 1. pp. 260-264. (Russian).
4. Welch R. W. A micro-method for the estimation of oil component and composition in seed crops. J. Sci. Food Agr. 1977. Vol. 28. P. 635-638.

Abstract. Keywords

The article shows the possibility of using information about the fatty acid composition to establish the species of fat products. The results of the study of the fatty acid composition of vegetable oils, animal fats and fish oil are given. The high information content and specificity of the method for determining the fatty acid composition, which allows it to be used to identify objects of biological origin and fatty traces, both in the forensic analysis of food products and in forensic examination, is shown.

Keywords: fatty acid composition; lipids; identification; vegetable oil; animal fat; salmon fish oil; species affiliation

Received (дата поступления): 22.03.2019