

УДК 573.6: 54.027/.064

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОТОПНОГО D/H СОСТАВА СВЕЖЕВЫЖАТЫХ СОКОВ ИЗ ФРУКТОВ

Диких И.А., Нагой М.Б.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», Краснодар,
e-mail: ivan.dikikh@gmail.com

Исследован изотопный D/H состав соков из фруктов, выращенных в различных географических регионах. Отличие в концентрациях дейтерия в соках из яблок, выращенных в различных регионах Российской Федерации составляло 10,2%, что может быть связано с неравномерным фракционированием изотопов водорода между регионами. Показано, что различия в изотопном составе соков из фруктов, выращенных в различных регионах, могут достигать 26,4%. Кроме того, полученные данные позволяют рекомендовать изучение D/H состава соков из фруктов для определения подлинности их происхождения.

Ключевые слова: дейтерий, протий, свежевыжатые соки, ЯМР спектроскопия

DETERMINING THE ISOTOPIC D/H COMPOSITION OF FRESH JUICES FROM FRUITS

Dikih I.A., Nagoi M.B.

Kuban state university, Krasnodar, e-mail: ivan.dikikh@gmail.com

The isotopic D/H composition of juices from fruit grown in different geographical regions is studied. The difference in the deuterium concentration in studied apples juices grown in different regions of the Russian Federation was about 10.2%, this may be due to uneven fractionation of hydrogen isotopes between regions. It is shown that differences in the isotopic composition of juices from fruit grown in different regions, can reach 26.4%. In addition, the data obtained allow to recommend the study of D/H composition of juices from fruits to determine the authenticity of their origin.

Keywords: deuterium, protium, fresh juices, NMR spectroscopy

Подлинность и место происхождения пищевых продуктов всегда были одной из главных забот многих потребителей. Концентрация стабильных изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ и $^2\text{H}/^1\text{H}$ в растениях четко коррелирует с местом их произрастания [1, 2]. Определение указанных выше изотопных соотношений чаще всего производят с помощью изотопной масс-спектрометрии (IRMS). Другим методом является ЯМР спектроскопия, которая позволяет определять соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$ и $^2\text{H}/^1\text{H}$ [3]. Часто данные изотопной масс-спектрометрии используются при проведении экспертизы пищевых продуктов на подлинность их происхождения. Такое приложение определения изотопных соотношений в пищевых продуктах особенно полезно при контроле качества, поскольку позволяет обнаруживать добавление сахара и воды, например, во фруктовые соки; отслеживать места географического происхождения продуктов питания, а также определять концентрацию тяжелого водорода в питьевых продуктах, которая может оказывать сильное влияние на метаболизм и процессы адаптации живых организмов [4–8]. Одним из самых больших ограничений для применения методов определения подлинности с помощью исследования изотопных соотношений в пище является отсутствие крупных баз

данных продовольственных товаров по содержанию в них стабильных изотопов [1].

Принимая во внимание вышеизложенное, целью настоящего исследования стало определение изотопного D/H состава соков из фруктов, выращенных в различных географических регионах и потребляемых населением Краснодарского края.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования были свежевыжатые соки из фруктов, приобретенные в оптово-розничной сети г. Краснодара, в количестве 10 проб для каждого изученного наименования. Определение изотопного соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ проводили в свежевыжатых соках из 3 различных фруктов (мандарин, апельсин, яблоко) и 8 стран (Россия, Аргентина, Абхазия, Израиль, Турция, Египет, Сирия, Сербия), всего было 10 различных образцов фруктов из разных стран.

Ягодно-фруктовый сок – это внутриклеточная жидкость, поэтому, чтобы получить ее, необходимо нарушить целостность клетки, а затем отделить жидкость от твердой части. Получить промежуточный продукт-мезгу можно раздавливанием, истолчением и размельчением сырья в блендере. В данной работе были использованы три вида фруктов, а именно апельсины, мандарины и яблоки. Апельсины наряду с мандаринами были разрезаны на равные пропорции и выжаты с помощью соковыжималки. Яблоко было измельчено с помощью блендера, полученный промежуточный продукт-мезгу в свою очередь разделяли на жидкую и твердую часть. Жидкая часть представляла собой сок, который центрифугировали в течение

10 минут на 3000 об./мин и затем, с помощью микропипетки отбирали жидкую фракцию.

Определение концентрации дейтерия проводили на импульсном ЯМР фурье-спектрометре JNM-ECA 400, с датчиком 40TH5AT/FG2, имеющем следующие характеристики: индукция постоянного магнитного поля составляла 9,389766 Тл; для ядер дейтерия резонансная частота составляла 61,37 МГц; для ядер ^1H чувствительность прибора была ≥ 220 (для 0,1 % раствора этилбензола в дейтерохлороформе); дрейф постоянного магнитного поля был менее 4 Гц/ч.

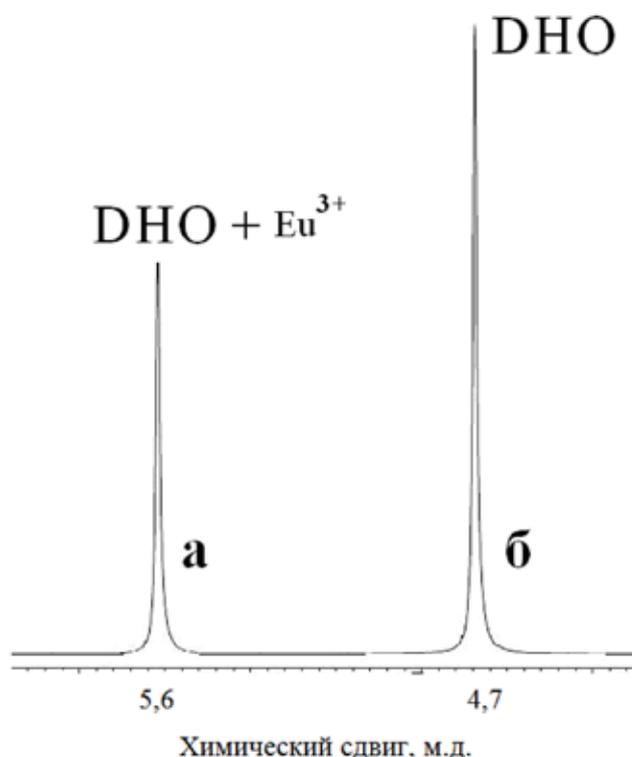
В работе использовали основную откалиброванную ЯМР-ампулу, имеющую диаметр $4,97 \pm 0,013$ мм и длину 178 мм, в которую заливали сок для определения в нем D/H соотношения. В основную ампулу вставляли коаксиальный внешний стандарт, содержащий в себе эталонное вещество (с известным соотношением D/H) с молекулярной структурой, аналогичной исследуемому веществу. Внутренняя ампула имела ёмкость 40 мкл и длину концевой капилляра 32 мм. В качестве эталонного вещества использовали раствор лантаноидного сдвигающего реагента (ЛСР) – трифторметансульфонат европия (III), производства Sigma Aldrich. Данный ЛСР являлся безводным и водорастворимым. Благодаря этому мы наблюдали смещение ЯМР сигнала вещества внутренней ампулы относительно исследуемого вещества. Это позволяет производить интегрирование полученных сигналов

спектра относительно друг друга [9]. Для построения калибровочной кривой использовали ряд образцов воды с известным изотопным (D/H) составом в диапазоне 40–160 ppm. Воду с пониженным относительно природного содержанием дейтерия получали на разработанной в Кубанском государственном университете электрохимической установке [10].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами вариационной статистики с использованием свободного программного обеспечения – системы статистического анализа R (R Development Core Team, 2008, достоверным считали различие при $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Было показано, что значения $^2\text{H}/^1\text{H}$ во всех образцах практически одинаковы и находились в интервале 122,1 до 154,3 ppm. Пример получаемого спектра ЯМР свежевыжатого сока из апельсина (Египет) и эталонного образца, содержащего трифторметансульфонат европия (III), представлен на рисунке. Результаты количественных анализов изотопного соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ в ряде других объектов исследования, выполненные нами, представлены в таблице.



ЯМР спектр свежевыжатого сока из апельсина (Египет). Сигнал дейтерия в исследуемом образце свежевыжатого сока (б), относительно эталона со сдвигающим реагентом (а)

Из рисунка видно, что применение лантаноидного сдвигающего реагента позволило получить химический сдвиг сигнала эталонного образца относительно сигнала исследуемого образца. Выбор эталонного образца – вещества, имеющего ЯМР сигнал, относительно которого будет производиться определение интегральной интенсивности определяемого пика в спектре, является важной проблемой при количественном определении изотопов методом ЯМР спектроскопии. В качестве эталона необходимо использовать вещество, имеющее оптимальное значение спин-решёточной релаксации (T_1) для изучаемого ядра, так как время T_1 определяет релаксационную задержку при накоплении ЯМР спектра в отсутствии насыщения. Поэтому, чем ниже значение T_1 , тем короче время проведения количественного ЯМР анализа. Однако при очень коротких временах спин-спиновой релаксации (T_2) ядер наблюдается значительное уширение линии спектра ЯМР, что снижает точность при интегрировании пиков. Выбор в качестве ЛСР именно соединения европия (III) из всех лантаноидов обусловлен тем, что при достаточном сдвигающем эффекте Eu^{3+} , влияние на времена спин-решёточной и спин-спиновой ядерной релаксации невелико, относительно других соединений редкоземельных элементов.

из сирийского апельсина (154,3 ppm). Такой разброс может быть связан с тем, что в Сирии местность более пустынная, при этом, за счет фракционирования изотопов там наблюдается преимущественное накопление дейтерия в воде. Необходимо отметить, что концентрация дейтерия в соках из мандаринов, выращенных в разных странах, практически не отличалась. Отличие в концентрациях дейтерия в соках из яблок, выращенных в различных регионах Российской Федерации, составляло 10,2%, что может быть связано с неравномерным фракционированием изотопов водорода между регионами. Разброс концентраций дейтерия в соках из апельсинов, выращенных в различных странах, составил 26,4%.

Заключение

Таким образом, в результате проведенной работы достигнута основная цель – исследован изотопный D/H состав соков из фруктов, выращенных в различных географических регионах. Показано, что различия в изотопном составе соков из фруктов, выращенных в различных регионах, могут достигать 26,4%. Кроме того, полученные данные позволяют рекомендовать изучение D/H состава соков из фруктов для определения подлинности их происхождения.

Концентрация дейтерия в исследованных фруктах

№	Наименование образца и страна происхождения	Концентрация дейтерия, ppm
1.	Мандарин (Аргентина)	147,1 ± 2,1
2.	Мандарин (Абхазия)	147,4 ± 1,9
3.	Мандарин (Израиль)	149,7 ± 2,0
4.	Яблоко (Россия)	134,7 ± 1,8
5.	Яблоко (Россия, г. Ейск)	148,4 ± 2,2
6.	Яблоко (Сербия)	142,4 ± 2,1
7.	Апельсин (Сирия)	154,3 ± 2,2
8.	Апельсин (Россия)	145,2 ± 2,3
9.	Апельсин (Турция)	122,1 ± 2,6
10.	Апельсин (Египет)	152,9 ± 2,4

Из таблицы видно, что минимальная концентрация дейтерия была в соке из турецкого апельсина и составляла 122,1 ppm. Максимальная концентрация дейтерия среди изученных образцов наблюдалась в соке

Список литературы

1. Magdas D.A., Puscas R. Stable isotopes determination in some Romanian fruit juices / D.A. Magdas, R. Puscas // Isotopes in Environmental and Health Studies. – 2011. – Vol. 47; No 3. – P. 372–378.

2. Быков М.И. Сравнительная характеристика изотопного D/H состава и антиоксидантной активности свежевыжатых соков из овощей и фруктов, выращенных в различных географических регионах / М.И. Быков, С.С. Джимаков, А.А. Басов, О.М. Арцыбашева, Д.И. Шашков, М.Г. Барышев // Вопросы питания. – 2015. – Т. 84; № 4. – С. 89–96.
3. Джимаков С.С. Определение изотопного соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в спиртах различного происхождения с помощью ЯМР-спектроскопии ядер ^1H / С.С. Джимаков, А.А. Басов, В.Ю. Бузько, Г.Ф. Копытов, Д.В. Кашаев, Д.И. Шашков, М.С. Шлапаков, М.Г. Барышев // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2016. – Т. 59; № 10. – С. 167–171.
4. Барышев М.Г. О возможности применения воды с модифицированным изотопным составом и pH в мясной промышленности / М.Г. Барышев, С.С. Джимаков, М.А. Долгов, А.С. Дыдыкин, Г.И. Касьянов // Известия вузов. Пищевая технология. – 2012. – № 2–3. – С. 42–44.
5. Косенков А.В. Исследование распределения тяжелых ядер в организме лабораторных животных с применением мультиспектральной МРТ визуализации / А.В. Косенков, М.В. Гуляев, Н.В. Анисимов, В.И. Лобышев, Ю.А. Пирогов // Ученые записки физического факультета Московского университета. – 2015. – № 4. – С. 154352.
6. Джимаков С.С. Распределение дейтерия в биологических жидкостях и внутренних органах: влияние воды с пониженным содержанием дейтерия на градиент D/H и процессы адаптации / С.С. Джимаков, А.А. Басов, М.Г. Барышев // ДАН. – 2015. – Т. 465; № 2. – С. 245–248.
7. Самков А.А. Влияние изотопного состава воды на выход биомассы *Rhodospirillum rubrum* / А.А. Самков, С.С. Джимаков, М.Г. Барышев, Н.Н. Волченко, А.А. Худокормов, С.М. Самкова, Э.В. Карасева // Биофизика. – 2015. – Т. 60; № 1. – С. 136–142.
8. Киркина А.А., Лобышев В.И., Лопина О.Д., Доронин Ю.К., Бурдейная Т.Н., Чернопятко А.С. Изотопные эффекты малых концентраций дейтерия воды в биологических системах / А.А. Киркина, В.И. Лобышев, О.Д. Лопина, Ю.К. Доронин, Т.Н. Бурдейная, А.С. Чернопятко // Биофизика. – 2014. – Т. 59; № 2. – С. 399–407.
9. Джимаков С.С. Применение ЯМР-спектроскопии для определения низких концентраций нерадиоактивных изотопов в жидких средах / С.С. Джимаков, А.А. Басов, Г.Ф. Копытов, Д.В. Кашаев, М.Е. Соколов, О.М. Арцыбашева, К.С. Шарапов, М.Г. Барышев // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2015. – Т. 58; № 7. – С. 47–52.
10. Барышев М.Г. Способы получения воды с пониженным содержанием дейтерия / М.Г. Барышев, С.Н. Болотин, В.Ю. Фролов, С.С. Джимаков, А.А. Пикула, М.А. Долгов, Д.И. Шашков, И.С. Петриев // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. – 2013. – № 1. – С. 13–17.