

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт мониторинга климатических и экологических систем
Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКЭС СО РАН)

На правах рукописи

Калашникова Дарья Андреевна

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗОТОПНОГО
СОСТАВА ВОДОРОДА, КИСЛОРОДА, УГЛЕРОДА И АЗОТА В ПРОДУКТАХ
ПЧЕЛОВОДСТВА

1.4.2 – Аналитическая химия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
кандидат технических наук, доцент
Симонова Галина Владимировна

Томск – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
1 Обзор научно-технической литературы.....	9
1.1 Экологическая безопасность продуктов питания.....	9
1.2 Состояние рынка медовой продукции: качество и безопасность	9
1.3 Общие методы и задачи оценки качества меда	12
1.3.1 Органолептический метод	14
1.3.2 Общие физико-химические и микробиологические методы	14
1.3.3 Современные методы исследования качества меда.....	16
1.4 Метод изотопной масс-спектрометрии. Теоретические основы фракционирования стабильных изотопов легких элементов в биологических системах.....	18
1.4.1 Стабильные изотопы углерода.....	18
1.4.2 Стабильные изотопы азота	20
1.4.3 Стабильные изотопы водорода и кислорода.....	21
1.4.3.1 Изотопы водорода	21
1.4.3.2 Изотопы кислорода	23
1.4.4 Применение изотопной масс-спектрометрии для продуктов пчеловодства	24
2 Предмет и объект исследования. Метод изотопной масс-спектрометрии легких элементов (С, N, H, O) продуктов пчеловодства	27
2.1 Предмет и объект исследований	27
2.2 Отбор проб.....	30
2.3 Пробоподготовка	30
2.3.1 Пробоподготовка образцов продуктов пчеловодства.....	30
2.3.2 Выделение белковой фракции меда.....	36
2.4 Измерение отношений стабильных изотопов	36
2.5 Контроль качества результатов анализа изотопного состава.....	40
2.6 Метрологическая оценка точности измерений.....	41
2.7 Предварительная метрологическая аттестация методики	45
2.8 Программное обеспечение. Методы обработки данных.....	47
3 Изотопные характеристики продуктов пчеловодства	49
3.1 Изотопные характеристики воска	49
3.2 Изотопные характеристики прополиса.....	51
3.3 Изотопные характеристики подмора пчел	53
3.4 Изотопные характеристики пыльцевой обножки	57

3.5	Изотопные характеристики растений-медоносов.....	63
3.6	Изотопные характеристики меда.....	67
3.6.1	Мед.....	67
3.6.2	Белковая фракция меда	69
3.7	Анализ взаимосвязей	71
3.7.1	Эффект лесного полога	72
3.7.2	Географическое происхождение	75
3.7.2.1	Углерод.....	75
3.7.2.2	Водород и кислород	80
4	Проверка подлинности меда на предмет фальсификации сахарными сиропами	89
4.1	Экспериментальное исследование изменения изотопного состава меда при разбавлении меда инвертным сахарным сиропом	89
4.2	Обнаружение поддельных образцов меда, фальсифицируемых сахарными сиропами, методом сравнения изотопного состава углерода меда и экстрагированной из него белковой фракции.....	93
	Заключение	104
	Благодарности.....	106
	Список используемых сокращений и условных обозначений.....	107
	Список литературы	108
	Приложение А	128
	Приложение Б.....	140
	Приложение В.....	141

Введение

Актуальность выбранной темы исследования. Перед аналитической химией стоит задача совершенствования методов и методик контроля качества продуктов питания с учетом современного и постоянно совершенствуемого аналитического оборудования. Сочетание метода изотопной масс-спектрометрии с использованием определенных биоиндикаторов состояния среды позволяет количественно выявлять тонкие градации изменений состояния и выводит исследования на новый уровень, поскольку изотопный анализ конкретных индикаторов предоставляет новые возможности в области аналитического контроля качества пищевой продукции растительного происхождения.

Стабильные изотопы встречаются в окружающей среде в естественных условиях, обладают способностью к фракционированию в различных физико-химических процессах, что определяет их уникальность как объекта исследований и позволяет использовать в качестве природных индикаторов при изучении биогеохимических циклов, пищевых цепей и изменений, происходящих в экосистемах, т.е. всех факторов, влияющих на качество растительного сырья и продуктов питания. Кроме того метод изотопной масс-спектрометрии позволяет доказать фальсификацию или подмену пищевых продуктов, так как стабильные изотопы в составе пищевой продукции выступают в качестве средства регистрации критериев качества. Согласно Доктрине продовольственной безопасности Российской Федерации одним из положений Стратегии национальной безопасности нашей страны является обеспечение населения качественной и безопасной пищевой продукцией. Возможность отслеживать происхождение пищевых продуктов с помощью надежных аналитических методов является важной составляющей комплексного подхода к безопасности пищевых продуктов. Отслеживание происхождения пищевых продуктов и подтверждение их подлинности с использованием метода изотопной масс-спектрометрии легких элементов является актуальным направлением развития сферы обеспечения безопасности продуктов питания, так как изотопные сигнатуры в глобальном масштабе имеют значительные естественные вариации и совпадения. Поэтому для анализа пищевых продуктов необходимо развивать методику исследования изотопных сигнатур и соответствующих референсных баз данных с показателями, соответствующими аутентичным продуктам питания.

Для развития таких референсных баз данных по продуктам питания в рамках данного исследования выбраны мед и другие продукты пчеловодства: воск, прополис, подмор пчел и пыльцевая обножка. Мед является одним из самых чистых продуктов нашей планеты и одновременно наиболее часто фальсифицируемым. Пчелиный мед является очень популярным

продуктом, поскольку используется не только как пищевой продукт, но и как лекарственное средство.

Ввиду того, что на территории Российской Федерации подобные работы не проводились, для решения задач комплексного исследования изотопного состава продуктов пчеловодства необходима разработка новой методологии, обеспечивающей понимание механизмов фракционирования изотопов, включающей стадии пробоподготовки и методики исследования, которая гарантирует достоверность и объективность полученных результатов, а также способы интерпретации полученных новых данных.

Степень разработанности выбранной темы исследования. Изучение изотопного состава меда проводилось во многих зарубежных странах: Италия [1], Словения [2, 3], Польша [4], Турция [5], Африка [6], Бразилия [7, 8], Новая Зеландия [9], Корея [10]. Множество работ посвящено вопросам исследования аутентичности меда [11–16]. Работы по исследованию изотопного состава пчел проводились во Франции [17] и Японии [18]. Ряд работ [19, 20] рассматривает пчел в контексте изучения трофических цепей. Данные по изотопному составу водорода воска представлены в работе [21]. Работ по изучению изотопного состава пыльцевой обножки не найдено, однако существует множество работ по исследованию изотопного состава пыльцы растений [22, 23]. Исследования факта фальсификации российских образцов меда единичны [24, 25], работы по исследованию других продуктов пчеловодства в России не проводились, поэтому получение оригинальных данных по изотопному составу меда и других продуктов пчеловодства актуально.

Цель и задачи. Цель работы – разработка методических подходов к определению подлинности и выявлению фальсификации продуктов пчеловодства на основе метода масс-спектрометрического анализа стабильных изотопов водорода, кислорода, углерода и азота.

Для достижения цели решены следующие задачи:

- Получить оригинальные данные по изотопному составу кислорода, водорода, азота и углерода продуктов пчеловодства российского рынка.
- Исследовать зависимость изотопного состава водорода и кислорода образцов меда, подмора пчел, пыльцевой обножки и воска от изотопного состава метеорных вод регионов производства продукции пчеловодства для выявления географической принадлежности на основе корреляционного анализа.
- Экспериментально исследовать изменение величины изотопного состава углерода на модельных образцах при разбавлении натурального меда инвертными тростниковым и свекловичным сахарными сиропами.

- Разработать критерии выявления фальсифицированных образцов российского меда на основе сравнения изотопного состава углерода меда и его белковой фракции и провести анализ аутентичности образцов меда на основе разработанных критериев.
- Разработать, апробировать и аттестовать методику измерений отношений стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в меде.

Научная новизна исследования. Исследование вносит вклад в развитие метода изотопной масс-спектрометрии и демонстрирует потенциал использования стабильных изотопов легких элементов (O, H, C и N) в области анализа продуктов пчеловодства. Работа основана на большом количестве новых изотопных данных, полученных с применением современного метода изотопной масс-спектрометрии, интерпретация которых впервые проведена с использованием разработанных оригинальных подходов, что обусловило получение новых научных результатов:

1) Впервые проведены исследования изотопного состава легких элементов (H, O, C и N) для продукции пчеловодства российских производителей и выявлена зависимость изотопного состава водорода и кислорода образцов меда, подмора пчел и пыльцевой обножки от изотопного состава метеорных вод регионов производства для выявления географической принадлежности.

2) Впервые предложено использовать значение изотопного состава тростникового сахара в формуле для расчета содержания сахара, полученного из растений с C₄ типом фотосинтеза, при выявлении фальсификации меда российских производителей.

3) Разработаны критерии оценки натуральности состава российского меда по изотопному составу углерода для выявления разбавления образцов натурального меда инвертными сахарными тростниковыми сиропами. Мед считается сфальсифицированным, если: 1) величина $\delta^{13}\text{C}$ меда больше $-24,0\%$; 2) разница между величиной $\delta^{13}\text{C}$ белковой фракции меда и величиной $\delta^{13}\text{C}$ меда составляет более $+1,3\%$ или менее $-1,3\%$; 3) процент содержания сахара, полученного из растений с C₄ типом фотосинтеза, более $9,1\%$ или менее $-9,1\%$.

4) Разработан алгоритм определения изотопного состава водорода, углерода, кислорода и азота в продуктах пчеловодства, воплощенный в аттестуемую методику «Методика измерений отношений стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в меде».

Теоретическая и практическая значимость диссертации. Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 19-34-90016-а «Апимониторинг для пространственно-временного анализа состояния окружающей среды».

Разработанная методика исследования изотопного состава легких элементов продукции пчеловодства позволяет провести идентификацию медовой продукции, используя соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, с оценкой ее географического происхождения и для проверки

подлинности на факт фальсификации. Стабильные изотопы азота более действенны в качестве экологических индикаторов (маркеров) азотосодержащих соединений и могут быть использованы для анализа степени обогащения почвенного покрова и произрастающих на нем растений тяжелым изотопом азота (^{15}N).

Поскольку имеются значительные естественные вариации и совпадения изотопных сигнатур в глобальном масштабе, база данных значений изотопного состава продуктов пчеловодства российских производителей внесет вклад в создание глобальных референсных баз данных по пищевым продуктам, подобных Глобальной сети «Изотопы в осадках», с показателями, соответствующими аутентичным продуктам.

Практическая значимость подтверждена актами внедрения результатов диссертационной работы, полученными от ООО «МС-Аналитика» и ООО «Городской супермаркет» (Азбука вкуса). На стадии аттестации находится разработанная на основе исследуемых образцов меда методика «Методика измерений отношений стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в меде». Аттестацию проводит Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева» (ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»).

Методология и методы исследования. Методологической основой интерпретации данных выступили работы отечественных и зарубежных ученых в области изотопной масс-спектрометрии и основ фракционирования стабильных изотопов. При выполнении работы применялись аттестованные стандартные образцы МАГАТЭ и Геологической службы США, руководства и рекомендации к измерениям, установленные за рубежом.

Исходные данные о величинах изотопного состава образцов продуктов пчеловодства получены с применением современного метода изотопной масс-спектрометрии. Обработка и анализ данных проводились с использованием статистических и графических программ.

Личный вклад соискателя. Автором проведен поиск и анализ научных данных по тематике исследования, проведены научные эксперименты с использованием разработанных методологий масс-спектрометрических исследований изотопного состава углерода, водорода, кислорода и азота в образцах меда и продуктов пчеловодства, осуществлена обработка и оценка полученных результатов, подготовлены публикации по результатам исследований, а также принято участие в разработке и аттестации методики измерений изотопного состава углерода, кислорода и водорода в меде методом масс-спектрометрии стабильных изотопов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты анализа изотопного состава углерода меда, его белковой фракции и продуктов пчеловодства, способы подготовки проб, условия проведения измерений и интерпретация результатов.

2. Закономерность изменений изотопного состава водорода, кислорода продуктов пчеловодства от изотопного состава водорода и кислорода метеорных вод, характерных региону происхождения.

3. Рекомендации к масс-спектрометрическому исследованию изотопного состава водорода $^2\text{H}/^1\text{H}$, углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ и азота $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ в продуктах пчеловодства (воск, прополис, подмор пчел, пыльцевая обножка, мед и его белковая фракция), включающие предварительную метрологическую оценку точности измерений, критерии выявления фальсификации образцов российского меда.

4. Методика «Методика измерений отношений стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в меде», аттестуемая в ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева».

Степень достоверности и апробация работы. Работа основана на фактическом материале (более 2000 анализов), полученном современными методами с применением сертифицированного оборудования с высокой точностью определения, а также анализе и обобщении исследовательского материала с помощью статистической обработки при помощи языка R в программе RStudio. Основные результаты работы представлены на научных конференциях различного уровня: XI Сибирское совещание по климато-экологическому мониторингу (Томск, 2015), XXI Всероссийская студенческая научно-практическая конференция с международным участием «Проблемы безопасности современного мира» (Иркутск, 2016), Международная конференция и школа молодых ученых по измерениям, моделированию и информационным системам для изучения окружающей среды ENVIRONMENTAL 2018 (Томск, 2018), IX Сибирская конференция молодых ученых по наукам о Земле (Новосибирск, 2018), III Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2019), XI Всероссийская научная конференция и школа «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск, 2021).

Публикации. По тематике диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 2 статьи в научных журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, 2 статьи в зарубежных научных журналах, входящих в Web of Science и Scopus), 6 статей в сборниках материалов международных и всероссийских (в том числе с международным участием) научных конференций, совещаний.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора отечественной и зарубежной научно-технической литературы, семи глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа изложена на 141 странице основного текста, включает 37 таблиц и 44 рисунка, список литературных источников содержит 206 наименований.

1 Обзор научно-технической литературы

1.1 Экологическая безопасность продуктов питания

Обеспечение безопасности продуктов питания является важнейшим государственным и научным приоритетом, направленным на сохранение и улучшение здоровья населения, производство качественных и безопасных продуктов. На качество потребляемой пищи повлияло ухудшение экологической ситуации в мире, связанное, прежде всего, с антропогенной деятельностью человека. Согласно Доктрине продовольственной безопасности Российской Федерации одним из положений Стратегии национальной безопасности нашей страны является обеспечение населения качественной и безопасной пищевой продукцией [26, 27]. Рост уровня загрязнения окружающей среды, появление огромного количества пищевых химических добавок вызвало необходимость создания международного пищевого законодательства, ужесточающего требования к безопасности продуктов питания, а также новых методов контроля качества продуктов питания [28]. Одним из таких методов является изотопная масс-спектрометрия.

Метод изотопной масс-спектрометрии является наиболее эффективным средством, которое может доказать фальсификацию или подмену пищевых продуктов [29]. Еще в начале 1970-х годов предприняты первые попытки применения стабильных изотопов для установления подлинности пищевых продуктов [30]. С начала двадцать первого века определение стабильных изотопов стали применять и для проверки географического происхождения пищевых продуктов, т.к. стабильные изотопы в составе пищи выступают в качестве средства регистрации условий окружающей среды в зоне происхождения продуктов питания [31]. В 2019 г международное агентство по атомной энергии (МАГАТЭ) в сотрудничестве с Продовольственной и сельскохозяйственной организацией Объединенных Наций запустили международный исследовательский проект, направленный на борьбу с фальсификацией продуктов питания и поддержку развития баз данных пищевых продуктов с показателями, соответствующими аутентичным продуктам [32].

1.2 Состояние рынка медовой продукции: качество и безопасность

Мед – продукт, производимый медоносной пчелой (*Apis mellifera*) из собранного нектара растений. Содержание углеводов в нектаре (следовательно, и в меде) зависит от природных условий и вида растения. Основные углеводы нектара – сахара (глюкоза, фруктоза и сахароза),

содержание которых в нектаре колеблется от 3% до 80% [33]. При помощи комплекса ферментов (прежде всего, α -амилаза, аминопептидазы, липаза, глюкозооксидаза [34, 35] в организме пчелы происходит превращение нектара в мед. Состав меда продемонстрирован на рисунке 1.



Рисунок 1 – Относительное содержание компонентов меда различных типов [36]

Ежегодно в мире производится 1,2 млн т меда, однако даже этого количества недостаточно, чтобы удовлетворить спрос рынка [37]. В погоне за прибылью недобросовестным пчеловоды и продавцы подделывают натуральный мед дешевыми добавками, вводя в заблуждение потребителей, которые считают, что покупают чистый мед из определенного географического региона. Добавление тростникового и свекловичного сахара или кукурузного сиропа и неправильная маркировка географического происхождения — распространенные виды мошенничества на рынках меда [15]. На рисунке 2 представлены существующие методы и способы фальсификации меда:

1. Полностью синтезированный мед.

В появлении данного «меда» пчела не принимает участие, его синтезируют химики.

2. Разведенный мед.

В этом продукте частично присутствует натуральный мед. Доля настоящего меда в таком продукте значительно снижена, так как в мед добавляют сахарный сироп, однако какие-то полезные свойства сохраняются.

3. Мед, полученный в результате кормления пчел сахаром или старым мёдом.

Пчеловоды подкармливают пчел сахарным сиропом или старым медом, когда заготовленного пчелами корма не хватило зимой или ранней весной. Но встречаются

пчеловоды, которые стремятся получить много раннего меда и умышленно устанавливают поилки с патокой. Также некоторые пчеловоды подкармливают пчел в апреле оставшимися излишками меда с предыдущего сезона. В итоге в конце мая, начале июня получается свежий мед. Однако такой мед можно назвать фальсификатом: при проведении пыльцевого анализа в таком меде можно выявить пыльцу поздних медоносов (подсолнух, гречиха и так далее).

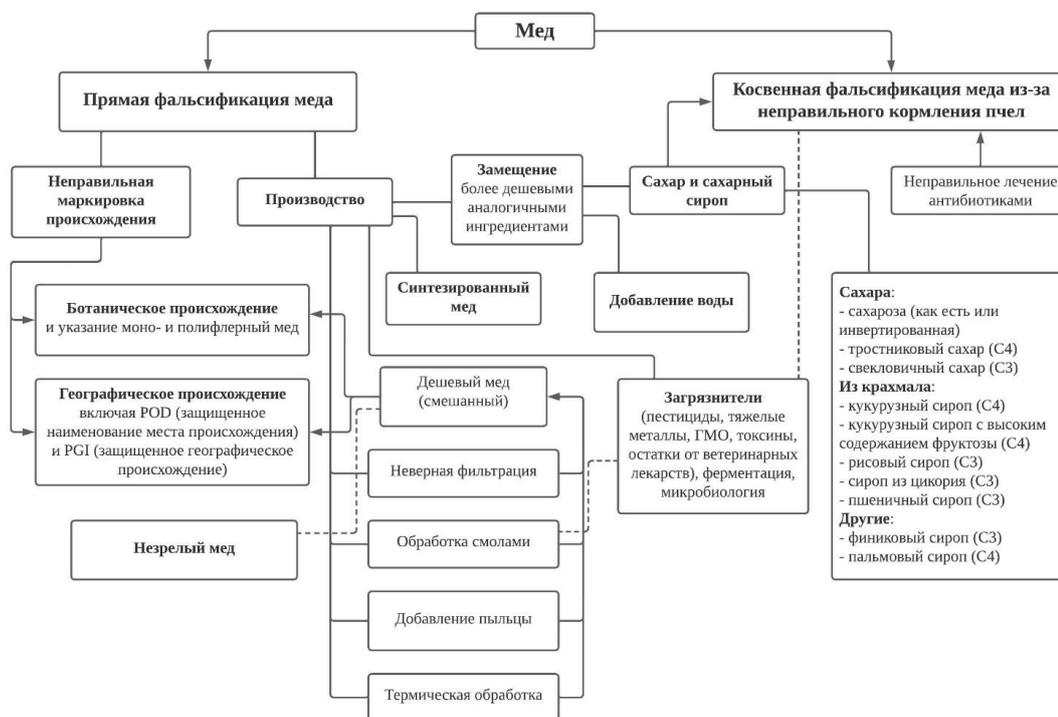


Рисунок 2 – Типы фальсификации меда [адаптировано по 38–40]

4. Незрелый мед.

Незрелый мед – это мед, который откачан из сот до их запечатывания пчелой. У незрелого меда незакончены процессы ферментации, медовый вкус и аромат ещё не успели «вызреть». Незрелый мед плохо хранится, часто бродит, расслаивается или пенится.

5. Ассортиментная фальсификация названия меда.

Ассортиментная фальсификация – это маркетинговый ход. Например, полифлерный мед выдается за монофлерный за счёт схожести цвета, вкуса. Умышленно изменяют и наименование места происхождения меда, присваивая продукту популярные у потребителей «Алтайский мед» или «Башкирский мед».

6. Подвергнутый нагреванию мед.

Натуральный мед кристаллизуется. Однако спрос покупателя на жидкий мед высок. Производитель, желая угодить, нагревает мед и приводит в жидкое состояние. При нарушении температурных требований натуральность меда остается, однако полезные свойства исчезают.

7. Фальсификация лабораторных показателей меда.

Не так давно стали появляться сообщения о фальсификации важного показателя меда – диастазного числа. Некоторые производители для получения высокого диастазного числа стали добавлять в мед приобретенную в аптеках диастазу, которую вырабатывают не пчелы, а плесневые грибки. Определить данный вид фальсификации в лаборатории невозможно.

Семинар экспертов Европейской комиссии, проведенный в январе 2018 года [41], подтвердил, что «прямая» фальсификация (добавление сахара/сиропа) является наиболее частым видом подделки. «Косвенная» фальсификация — это термин, обозначающий преднамеренное ненадлежащее кормление пчел сахаром, когда нектар растений доступен естественным образом. Обсуждались добавление пыльцы или других натуральных компонентов меда, таких как ферменты, к ультрафильтрованному меду и маркировка его как монофлерного меда или разбавление меда хорошего качества ультрафильтрованным медом. Синтетические смолы незаконно используются для удаления нежелательных веществ (в том числе антибиотиков или пестицидов) из меда, что может нанести вред здоровью.

1.3 Общие методы и задачи оценки качества меда

Оценку качества пчелиного меда проводят по результатам органолептического и лабораторного исследований. Учитывают пыльцевой спектр, цвет, вкус, аромат, консистенцию, механические примеси и основные физико-химические показатели натурального цветочного мёда. Требования к натуральному меду, критерии его оценки и методы анализа перечислены в действующих в России нормативных документах:

- ГОСТ 19792-2017 «Мед натуральный. Технические условия» [42].
- ГОСТ 31766-2012 «Меды монофлорные. Технические условия» [43]
- ГОСТ 34232-2017 «Мёд. Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимых веществ» [44]
- ГОСТ 32169-2013 «Мед. Метод определения водородного показателя и свободной кислотности» [45]
- ГОСТ 32167-2013 «Мед. Метод определения сахаров» [46]
- ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала» [47]
- ГОСТ 32168-2013 «Мед. Метод определения падевого меда» [48]
- ГОСТ 31769-2012 «Мед. Метод определения частоты встречаемости пыльцевых зерен» [49]

- ГОСТ 31770-2012 «Мед. Метод определения электропроводности» [50]
- ГОСТ 31774-2012 «Мед. Рефрактометрический метод определения воды» [51]
- ГОСТ 34820-2021 «Мед натуральный. Метод определения остаточных количеств антибактериальных, антипаразитарных, противогрибковых препаратов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором» [52]
- ГОСТ 34821-2021 «Мед натуральный. Определение содержания глюфосината, глифосата и его метаболита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения» [53]

Согласно [42] мед по органолептическим и физико-химическим показателям должен соответствовать основным требованиям, приведенным в таблице 1.

Таблица 1 – Требования ГОСТ по органолептическим и физико-химическим показателям, которым должен соответствовать мед [42]

Наименование показателя	Характеристика и значение показателя
Внешний вид (консистенция)	Жидкий, частично или полностью закристаллизованный
Аромат	Приятный, от слабого до сильного, без постороннего запаха
Вкус*	Сладкий, приятный, без постороннего привкуса
Массовая доля воды, %, не более	20
Массовая доля редуцирующих сахаров, %, не менее	65
Массовая доля фруктозы и глюкозы суммарно, %, не менее:	
- для цветочного меда	60
- падевого и смешанного меда	45
Массовая доля сахарозы, %, не более:	
- для цветочного меда	5
- меда с белой акации	10
- падевого и смешанного медов	15
Диастазное число, ед. Готе, не менее:	
- для всех видов меда	8
- для меда с белой акации при содержании гидроксиметилфурфурала (ГМФ), не более $15 \text{ млн}^{-1} \text{ (мг/кг)}$	5
Массовая доля ГМФ, $\text{млн}^{-1} \text{ (мг/кг)}$, не более	25
Качественная реакция на ГМФ**	Отрицательная
Механические примеси	Не допускаются
Признаки брожения	Не допускаются
* Для медов с каштана, табака и падевого допускается горьковатый привкус.	
** При положительной качественной реакции массовую долю ГМФ определяют количественно.	

Однозначно определить качество меда, его ботаническое и географическое происхождение по органолептическим признакам невозможно. Вопрос определения ботанического состава меда можно решить мелиссопалинологическим методом исследования. А для подтверждения географического происхождения меда и его качества необходимо провести комплекс органолептических, физических и химических, микроскопических и других специальных исследований.

1.3.1 Органолептический метод

Самый простой способ оценки качества меда – органолептический, но, к сожалению, он недостаточно надежен, так как базируется на оценке качества меда с помощью органов чувств: обоняния, вкуса, зрения. Именно органолептическим методом определяют внешний вид, признаки брожения, аромат и вкус меда [42]. Также при органолептическом анализе меда обращают внимание на его цвет, чистоту и характер кристаллизации. Цвет меда зависит в первую очередь от растений, с которых он собран, и от времени сбора. Аромат меда зависит от нектароноса, длительности и условий хранения, а также нагревания и наличия примесей. Аромат меда исчезает при брожении, длительном и интенсивном нагревании, при добавлении тростникового и искусственно инвертированного сахара, патоки и т.д., а также после подкармливания пчел сахарным сиропом в большом количестве [33].

Вкус меда различается в зависимости от наличия ферментов, кислот, эфиров и других компонентов. Мед может иметь привкус (терпкий, кислый, горьковатый и др.). Мед, полученный в результате подкармливания пчел сахарным сиропом, добавления инвертированных сиропов или искусственной глюкозой, желатина и крахмала, менее сладок по сравнению с цветочным медом [54].

1.3.2 Общие физико-химические и микробиологические методы

Определение массовой доли воды в меде проводят рефрактометрическим методом по ГОСТ 31774-2012 [51] по индексу рефракции. Для исследования используют жидкий мед. Если мед закристаллизовался, его предварительно растапливают на водяной бане.

Для определения ботанического происхождения меда определяется частота встречаемости пыльцевых зерен. Процедура выполняется в соответствии с требованиями ГОСТ 31769-2012 [49]. Пыльцевые зерна отделяют от раствора меда центрифугированием, затем исследуют их под микроскопом. Производят идентификацию определенного количества

липовых медов выявлено значительное количество сахарозы, так как она содержится в большом количестве в нектаре цветков этих растений, но после откачки и дальнейшем хранении меда содержание сахарозы снижается до уровня 0–1,0% [56]. Процессы гидролиза сахарозы протекают и в сахарном меде подобным образом. Поэтому содержание сахарозы в меде не может рассматриваться в качестве критерия его натуральности, а является только показателем степени его созревания.

1.3.3 Современные методы исследования качества меда

Действующий ГОСТ 19792-2017 с задачей выявления некачественной продукции справляется, однако в отношении объективной оценки качества меда стандарт не дает четкого определения. Согласно нормативному документу можно разделить мед на соответствующий и не соответствующий стандарту. Однако стандарт не определяет критерии, по которым можно выявить качество меда. Существующие нормативные документы не предполагают оценки географического происхождения меда и не позволяют достоверно определить фальсификацию.

Исследования качества меда и совершенствование методов выявления фальсификации меда проводятся во многих странах мира [38, 40, 57–59], в том числе и в России [60]. В условиях глобализации товарных рынков ужесточаются требования государственных нормативных документов к качеству продуктов пчеловодства. Оптимизация и разработка новых требований к установлению подлинности и качества продуктов пчеловодства должна основываться на достижениях современной науки с помощью высокочувствительных методов анализа, применения международных стандартов и согласно закону РФ «О техническом регулировании» [61] соответствовать международными требованиям не нарушая положений, установленных законодательством Российской Федерации.

За последние годы появились новые оригинальные методики по выявлению фальсификации продукции пчеловодства с применением современных аналитических методов, которые являются достаточно сложными и дорогими [62–64]. На рисунке 4 представлены аналитические методы для аутентификации меда включающие традиционные и современные методы:

- Физико-химический анализ и микроскопический анализ пыльцы [65].
- Изотопные методы EA-IRMS и LC-IRMS [66, 67].
- Методы разделения, например, определение профиля сахара с помощью жидкостной хроматографией (ЖХ) или газовой хроматографией (ГХ).

- Спектрометрические методы, в том числе ЖХ с последующей масс-спектрометрией высокого разрешения [68] и ГХ-МС для определения профиля аромата.
- Спектроскопические методы, включая инфракрасное преобразование Фурье, спектроскопию в ближней инфракрасной области и ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) [69].
- Профилирование микроэлементов с помощью масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС).
- Молекулярная биология, штрих-кодирование ДНК для пыльцы [70].

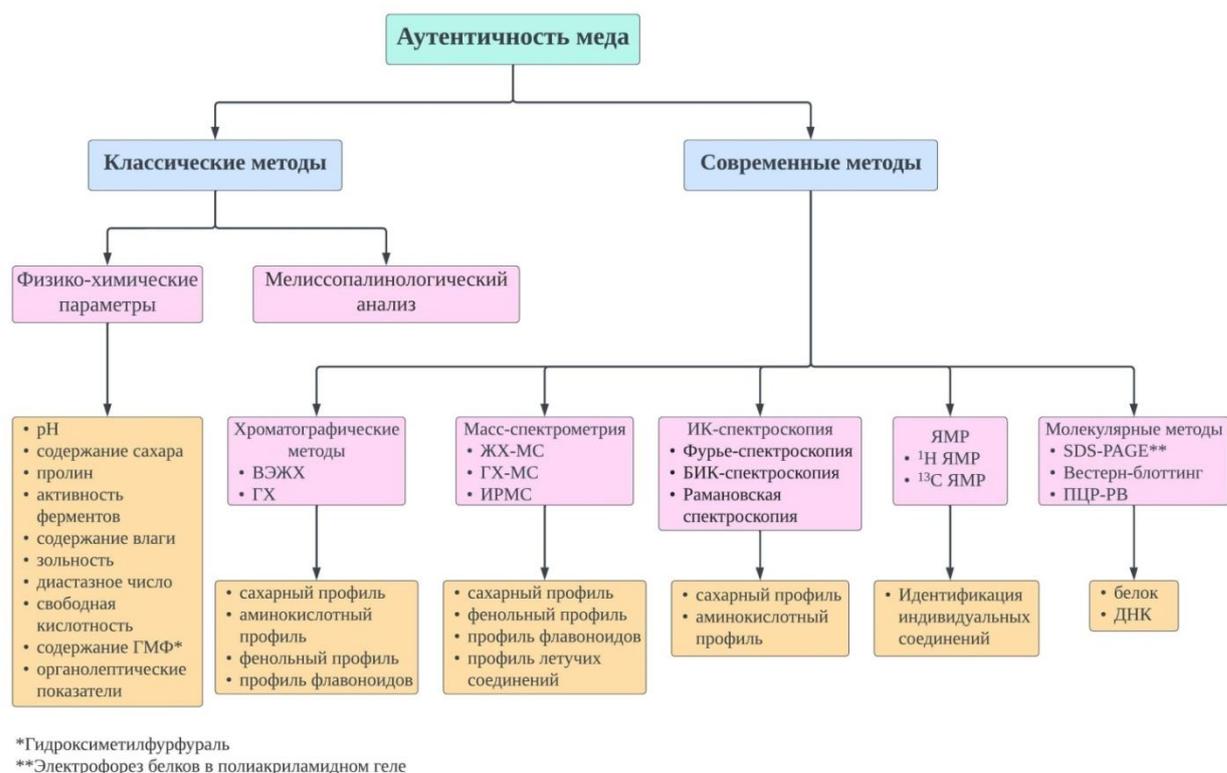


Рисунок 4 – Традиционные и современные аналитические методы, используемые для аутентификации меда

На оценку химических маркеров, таких как летучие вещества, фенольные кислоты, сахара и другие компоненты меда, могут влиять методы ведения пчеловодства, условия окружающей среды и изменения климата, что часто приводит к ненадежному определению ботанического или географического происхождения меда. В связи с этим необходимо использовать различные аналитические методы и подходы, иметь дополнительную информацию и глубокое знание методов исследования. В настоящее время передовые методы,

такие как масс-спектрометрия изотопного соотношения, ЯМР-спектроскопия стали наиболее популярны.

Выявить фальсификацию меда по добавлению сахарных сиропов, географического и ботанического происхождения непросто. Традиционные методы определения общих физико-химических параметров обычно недостаточно чувствительны, чтобы окончательно доказать фальсификацию. Для этого используют изотопную масс-спектрометрию стабильных изотопов углерода и других легких элементов [25], когда на атомном уровне появляется возможность доказать фальсификацию даже в тех случаях, когда фальсифицированная продукция по своим химическим и физическим свойствам оказывается идентичной оригинальному продукту.

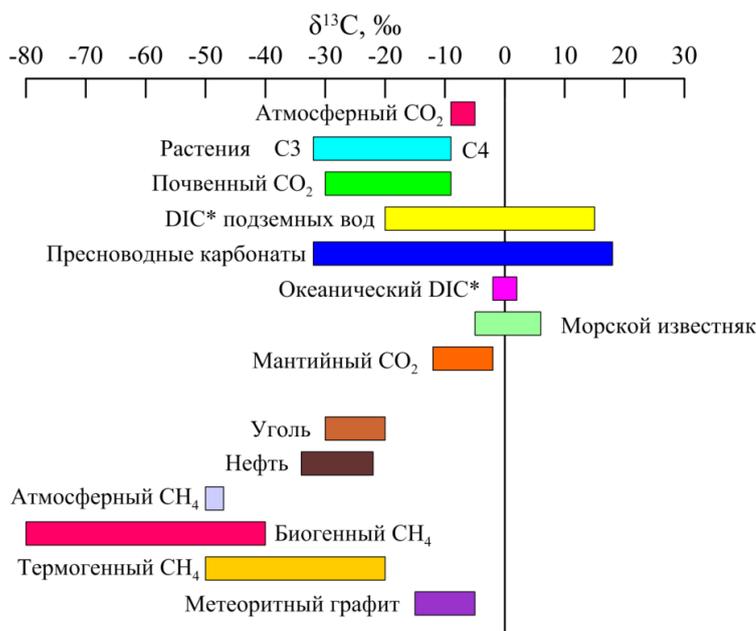
1.4 Метод изотопной масс-спектрометрии. Теоретические основы фракционирования стабильных изотопов легких элементов в биологических системах

Уникальным инструментом для изучения биогеохимических циклов, равновесия между компонентами экосистем является метод стабильных изотопов [71]. Многие биогеохимические процессы сопровождаются изменением соотношения между стабильными изотопами, благодаря чему разные компоненты экосистем различаются по своему изотопному составу [72].

Существенное отличие масс-спектрометрии от остальных физико-химических методов анализа заключается в том, что другие методы детектируют излучение или поглощение энергии молекулами или атомами, в то время как масс-спектрометрия детектирует непосредственно частицы вещества. Масс-спектрометрия работает с широким кругом аналитов: от химических элементов до сложных органических молекул [29].

1.4.1 Стабильные изотопы углерода

Углерод имеет два стабильных изотопа [73]: $^{12}\text{C} = 98,93\%$ и $^{13}\text{C} = 1,07\%$. Амплитуда естественной вариации изотопного состава углерода превышает 100‰, без учета вземных материалов (рисунок 5). В литературе сообщалось о тяжелых карбонатах со значениями $\delta^{13}\text{C} > 20\%$ и легком метане с величиной $\delta^{13}\text{C} < -100\%$ [74]. Но, как правило, диапазон значений изотопного состава углерода в геологических и биологических объектах лежит в более узком диапазоне (рисунок 5). Распределение изотопов в природе не гомогенно. Глобальный геохимический цикл и природные процессы регулируют реакции изотопного обогащения органических и неорганических соединений в природе.



*DIC (Dissolved Inorganic Carbon) - растворённый неорганический углерод

Рисунок 5 – Вариации изотопного состава углерода в различных объектах окружающей среды

Исследования изотопного состава углерода растительного сырья Craig H. [75, 76], Wickman F. E. [77] и Baertschi P. [78] показали, что большинство растительных материалов имеют относительно постоянное значение величины $\delta^{13}\text{C}$, близкое к -27‰ . Craig H. рассмотрел возможное влияние окружающей среды, диффузии CO_2 , химического поглощения CO_2 и дыхания [79]. Park и Epstein [80] показали, что ключевой карбоксилирующий фермент в растениях – рибулозобисфосфаткарбоксилаза (Рубиско) – дискриминирует $^{13}\text{CO}_2$.

Растения, использующие этот фотосинтетический путь (цикл Кальвина), называются C3 растения (наиболее часто встречаются в природе (сахарная свекла, пшеница и др.)) [81, 82]. C4-растения превращают CO_2 путем карбоксилирования фосфоенолпирувата (PEP) с помощью фермента PEP-карбоксилазы, чтобы получить молекулу оксалоацетата, которая имеет 4 атома углерода (цикл Хетча–Слэка). Поэтому растения, использующие этот фотосинтетический путь, называются растения C4 ((кукуруза, сахарный тростник, соя и др.) встречаются в основном в жарких и засушливых регионах) [74, 82]. Суккулентные растения (рода *Crassula* и др. (например, ананасы, кактусы) [83]) – это растения, которые имеют метаболизм крассулосовой кислоты (CAM). Они могут или фиксировать атмосферный углерод, как растения C3 (с помощью Рубиско), или вести себя как растения C4 [79, 84–87].

Значение величины $\delta^{13}\text{C}$ для растения в зависимости от их типа варьируется в разных диапазонах: для растений C3-типа между -23‰ и -33‰ , для растений C4-типа между -10‰ и -20‰ , для растений CAM-типа между $-11,0\text{‰}$ и $-13,5\text{‰}$ [88] (рисунок 6).

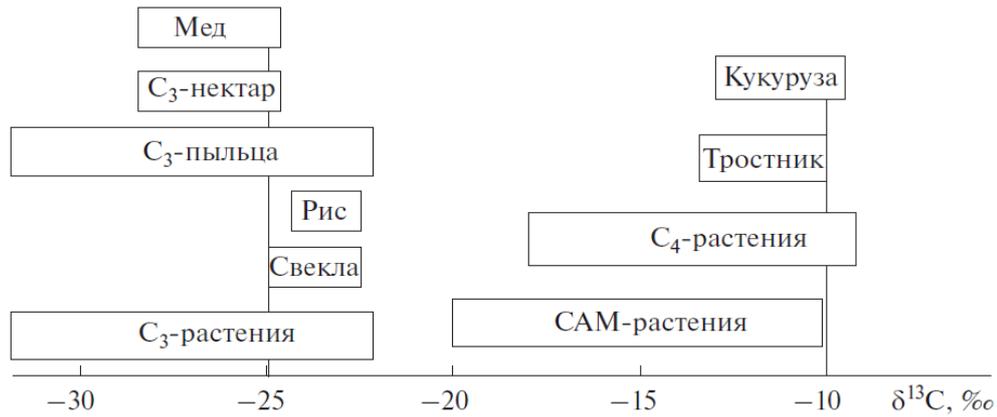


Рисунок 6 – Изотопное фракционирование ^{13}C в растениях [36]

Авторы работы [89] John H. Troughton и К. А. Card в экспериментальных условиях при контролируемой температуре роста ряда растений из группы C_3 -пути фотосинтеза получили зависимость накопления в ткани растений «тяжелого» изотопа углерода ^{13}C от основного внешнего фактора – температуры:

$$\delta^{13}\text{C} = -27,6 - 0,0125T, \quad (1)$$

где $\delta^{13}\text{C}$ – значение изотопа углерода в растениях, ‰; T – температура роста растений, $^{\circ}\text{C}$. Авторы [90] на основе анализа растений с C_3 типом фотосинтеза, произрастающих вдоль температурного трансекта на севере Китая, получили зависимости величины $\delta^{13}\text{C}$ от температуры с учетом влияния осадков.

1.4.2 Стабильные изотопы азота

Природный азот имеет два стабильных изотопа: ^{14}N (99,632%) и ^{15}N (0,368%) [73]. В разных компонентах биосферы концентрация тяжелого изотопа азота примерно одинакова (за исключением морских организмов) и соответствует атмосферному азоту ($\delta^{15}\text{N}=0\text{‰}$), но в биологических процессах азотного цикла, в процессах денитрификации, нитрификации, ассимиляции и улетучивании аммиака происходит фракционирование изотопов азота. Сегодня диапазон зарегистрированных значений $\delta^{15}\text{N}$ составляет 80‰, примерно от -30 до $+50\text{‰}$ [91–94]. Вариации значений величины $\delta^{15}\text{N}$ представлены на рисунке 7.

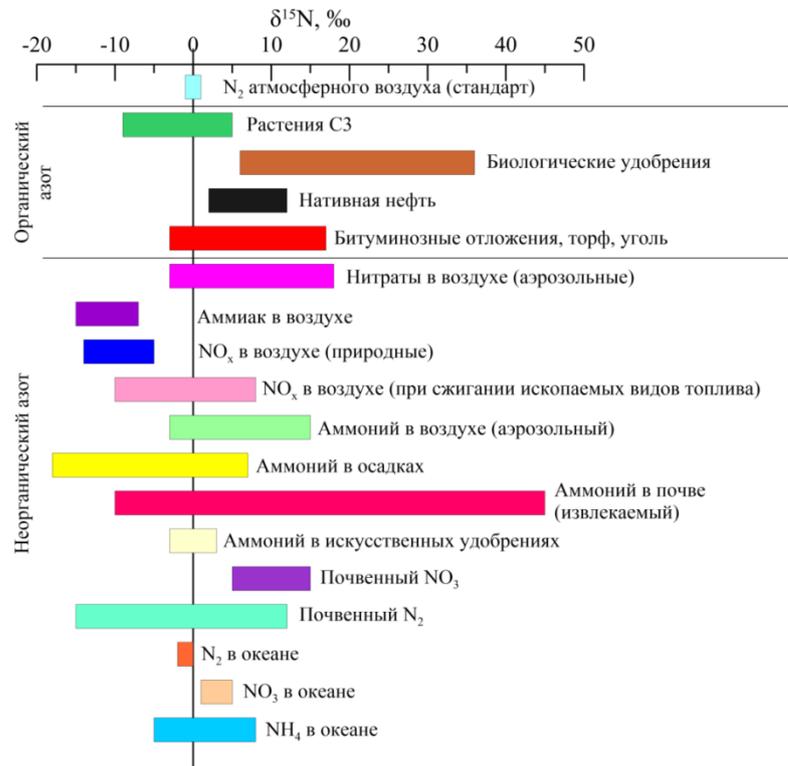


Рисунок 7 – Вариации величины $\delta^{15}\text{N}$ в объектах окружающей среды

В исследовании [95] показано, что изотопный состав азота растений, получивших минеральные удобрения, обогатился в четыре раза по сравнению с растениями, удобрявшимися компостом, следовательно, величина $\delta^{15}\text{N}$ растений является хорошим индикатором изотопного состава источников их азотного питания. Для оценки эффекта от комплексных растениеводческо-животноводческих методов и сидерации, применяя ^{15}N , можно отслеживать и анализировать эффективность усвоения азота растениями [96, 97]. Массовое использование азотных удобрений, обеспечивающих увеличение продуктивности растений, стало глобальной проблемой загрязнения поверхностных вод нитратами. Использование $\delta^{15}\text{N}$ является эффективным методом определения источников поступления соединений азота в природные воды [98, 99].

1.4.3 Стабильные изотопы водорода и кислорода

1.4.3.1 Изотопы водорода

Диапазоны вариаций значений изотопного состава водорода некоторых объектов окружающей среды приведены на рисунке 8.

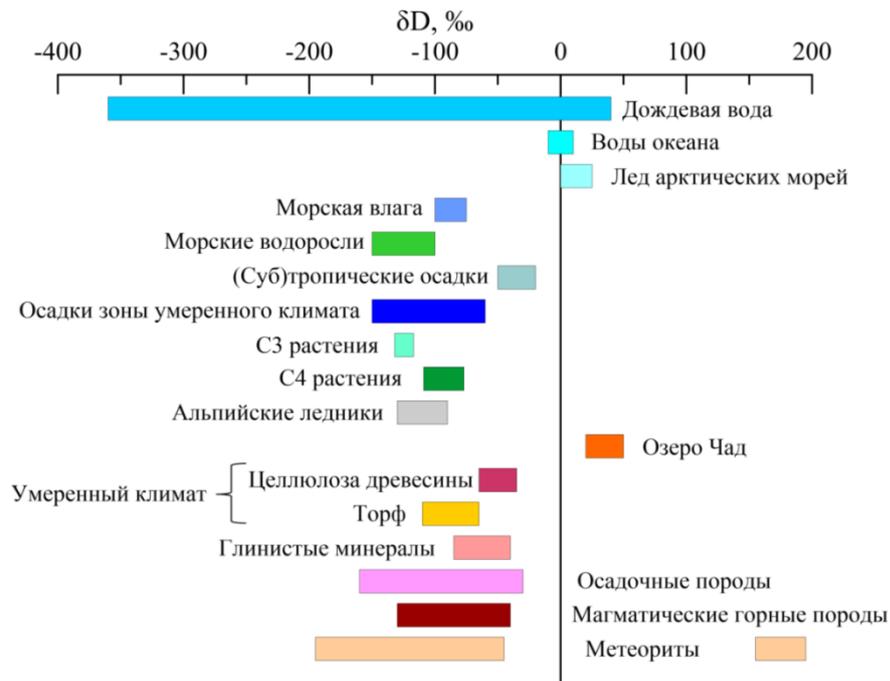


Рисунок 8 – Вариации величины δD ($^2H/^1H$) в объектах окружающей среды

Исследования растений указывают на сильное фракционирование изотопов водорода во время фотосинтеза по отношению к исходной воде, при этом органический материал обогащается легким изотопом. Липиды, по-видимому, сохраняют большую часть первоначального фракционирования, потому что они имеют значения величины δD около -200‰ по сравнению с исходной водой [100]. Однако на большую часть растительного водорода влияет дополнительное фракционирование, происходящее во время образования целлюлозы, которое в значительной степени компенсирует исходное фотосинтетическое фракционирование. В конце концов, фракционирование при фотосинтезе, образование целлюлозы и транспирация (для наземных растений) в значительной степени нейтрализуются, так что полученные значения величины δD сильно коррелируют со значениями местной воды.

Впервые эксперимент по выращиванию растений с различными путями фотосинтеза в контролируемых условиях проведен в 1976 году Ziegler Н. Результаты эксперимента показали, что при орошении водой со значением величины δD равным $-78,2\text{‰}$ растения с С3 типом фотосинтеза показали средние значения величины δD органического вещества -132‰ для побегов и -117‰ для корней; растения с С4 типом фотосинтеза показали значения величины δD , равные -91‰ для побегов и -77‰ для корней, а растения с САМ-метаболизмом имели значение величины δD , равные -75‰ для побегов и корней [101].

1.4.3.2 Изотопы кислорода

Существует три стабильных изотопа кислорода, которые действуют как индикаторы, когда в биосфере циркулирует множество обычных кислородсодержащих молекул: $^{16}\text{O}=99,757\%$, $^{17}\text{O}=0,038\%$ и $^{18}\text{O}=0,205\%$. Для молекулы воды существует девять изотопных конфигураций молекул, массы которых приблизительно равны массовым числам: H_2^{16}O ($m=18$), H_2^{17}O ($m=19$), H_2^{18}O ($m=20$), $^1\text{HD}^{16}\text{O}$ ($m=19$), $^1\text{HD}^{17}\text{O}$ ($m=20$), $^1\text{HD}^{18}\text{O}$ ($m=21$), D_2^{16}O ($m=20$), D_2^{17}O ($m=21$), D_2^{18}O ($m=22$). Давление пара данных молекул воды обратно пропорционально их массам: следовательно, давление пара молекул H_2^{16}O ($m=18$) выше давления пара молекул D_2^{18}O ($m=22$). Поэтому водяной пар, образующийся при испарении воды, обогащен «легкими» изотопами ^{16}O и ^1H , а оставшаяся вода обогащена «тяжелыми» изотопами ^{18}O и D . Испарение воды приводит к аналогичным изотопным эффектам как для кислорода, так и для водорода: происходит преимущественное поступление «легких» изотопов кислорода ^{16}O и ^1H в фазу пара, а «тяжелые» изотопы ^{18}O и D концентрируются в жидкой фазе. Если построить график зависимости величины $\delta^{18}\text{O}$ от величины δD (рисунок 9) для атмосферных осадков северного полушария (атмосферные осадки называются метеорными водами), то все наблюдения показывают хорошую корреляцию и попадают примерно на одну и ту же линию, называемую глобальной линией метеорных вод (Global Meteoric Water Line – GMWL). Эта линия описывается уравнением Крейга [102]:

$$\delta^2\text{H} = 8\delta^{18}\text{O} + 10. \quad (2)$$

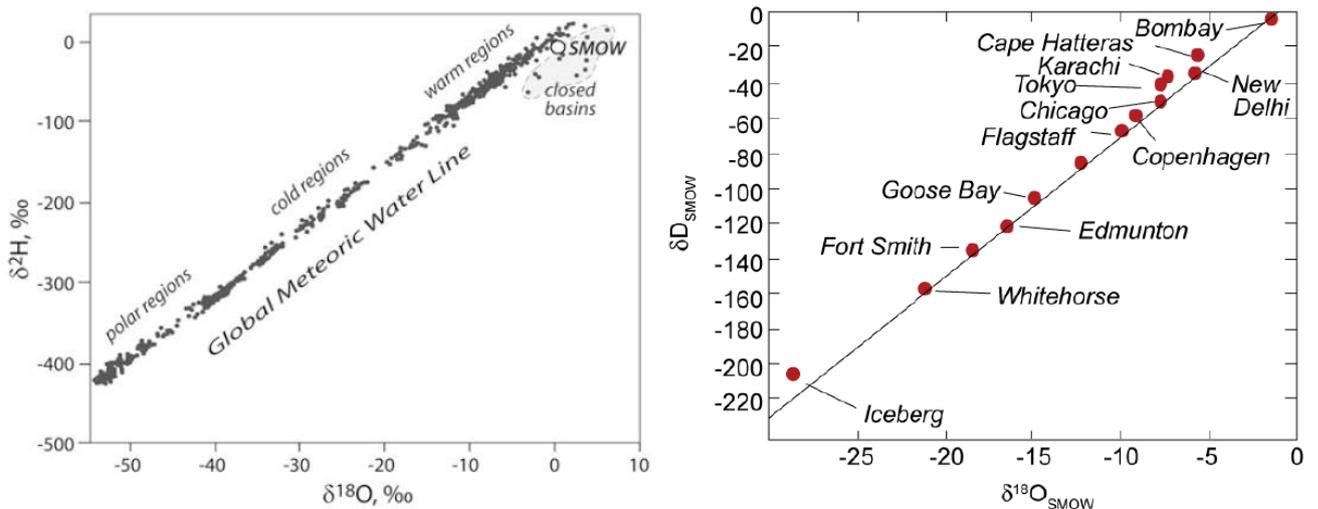


Рисунок 9 – Изотопный состав водорода и кислорода метеорных вод разных регионов мира. Также показаны закрытые бассейны с сильным испарением и «усредненная океаническая вода» (SMOW) [73, 103]

По мере того, как все больше и больше парообразной воды подвергается конденсации и выпадает в виде дождя или снега, каждое последующее выпадение будет иметь более низкие значения величин δD и $\delta^{18}O$, всегда попадая на GMWL или близко к ней. Наклон линии 8 соответствует факту, что фракционирование водорода в 8 раз более масштабно, чем фракционирование кислорода. Это связано с разницей в массе двух изотопов каждого элемента (100% для H, 12,5% для O и соотношение между ними 8).

Dansgaard W. в 1964 году установил линейную зависимость между среднегодовыми значениями величин $\delta^{18}O$ и δD атмосферных осадков и среднегодовой температурой воздуха в поверхностных слоях [102]. Уравнения зависимости для атмосферных осадков выглядит следующим образом:

$$\delta^{18}O = 0,695T - 13,6\text{‰}, \quad (3)$$

$$\delta^2H = 5,6T - 100\text{‰}. \quad (4)$$

Несколько других факторов, которые влияют на изотопный состав метеорных вод и в основном определяются эмпирически:

1. Высотный эффект (примерно $2 \pm 1\text{‰}/\text{км}$ для $\delta^{18}O$).
2. Эффект широты (примерно $0,002 \pm 0,001\text{‰}/\text{км}$ для $\delta^{18}O$).
3. Эффект удаленности от берега. Поскольку преобладающая воздушная масса, несущая влагу, перемещается с запада на восток через всю Европу, δD колеблется от примерно -45‰ в Англии до примерно -55‰ во Франции и примерно до -65‰ в Румынии [104, 105]. В Сибири величина δD осадков может достигать -250‰ .
4. Эффект количества. Чем больше количество осадков, тем ниже величины $\delta^{18}O$ и δD метеорных вод.

Таким образом, для изотопного состава кислорода и водорода воды наиболее значимыми факторами являются удаленность местности от океана и температура [106–109].

1.4.4 Применение изотопной масс-спектрометрии для продуктов пчеловодства

Идея использовать медоносных пчел для мониторинга окружающей среды предложена J. Svoboda в 1935 г. [110]. С 1970 года все чаще стали использовать пчел для мониторинга загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами в городских территориях, пестицидами в сельской местности [111, 112], а также радионуклидами [113]. В нашей стране апимониторинг (оценка состояния окружающей среды с использованием медоносных пчел и продуктов их жизнедеятельности) за последние два десятилетия осуществлялся в основном на загрязненность тяжелыми металлами в Новосибирской [114], Ростовской [115], Московской [116], Рязанской

[117], Смоленской и Пермской областях [118], в Республике Башкортостан [119]. Однако кроме тяжелых металлов, пестицидов и радионуклидов в качестве индикаторов загрязнения окружающей среды можно использовать стабильные отношения изотопов азота и углерода. Так как изотопные соотношения углерода и азота в растениях медоносах различаются между средами обитания, то и пчелы в разных местах обитания, и продукты их жизнедеятельности должны иметь индивидуальные изотопные отношения. Например, на территориях, подверженных высокому высушиванию, увеличивается испарение аммиака (NH_3) из почвы, что приводит к увеличению концентрации тяжелого изотопа азота ^{15}N в растительной ткани [120]. Изотопное фракционирование азота, возникающее в результате этих процессов, зафиксировано в тканях пчел, которые питаются в лесу и в открытом поле [121]. В работе [18] исследовали влияние землепользования и изменения климата в 139 районах Японии на стабильные соотношения изотопов азота и углерода для диких популяций пчел *Apis cerana*. Результаты исследований показали, что лесные массивы и годовые осадки оказали значительное влияние на величину $\delta^{15}\text{N}$, а рисовые поля и городские районы оказали значительное влияние на величину $\delta^{13}\text{C}$.

В последние годы изотопная масс-спектрометрия (IRMS) становится все более важным инструментом для идентификации подлинности пищевых продуктов и контроля происхождения [4, 122], т.к. этот метод позволяет выявить фальсификацию или подмену пищевых продуктов даже тогда, когда фальсифицированная продукция по своим химическим и физическим свойствам оказывается идентичной оригинальному продукту. Анализ стабильных изотопов для контроля заявленного происхождения уже регулярно применяется странами Европейского союза для фруктовых соков [123–126], вина [127] и меда [1, 3, 128–132] и продуктов пчеловодства [18]. Также в работах [133–137] продемонстрирован потенциал проверки происхождения и подлинности других пищевых продуктов, таких как молоко и молочные продукты, оливковое масло и мясо (свинина, говядина, баранина).

В рамках Европейского проекта TRACE-006942 «Отслеживание продовольственных товаров в Европе» проведен анализ стабильных изотопов легких элементов углерода, азота, серы и водорода в белковой фракции меда, отобранного в 20 регионах Европы [129]. Перспективность использования стабильных изотопов водорода для определения региона происхождения меда при анализе воска, отобранного из меда в сотах, проиллюстрирована в работе американских исследователей [21]. В России же подобные исследования единичны [25, 138].

Таким образом, основываясь на литературных данных, можно выделить следующие области применения данных по изотопному составу продуктов пчеловодства (таблица 2).

Таблица 2 – Возможные области применения данных по изотопному составу продуктов пчеловодства

Продукт пчеловодства	Измеряемая величина	Возможные области применения		
		География	Фальсификация	Экология
Воск	δD	✓		
	$\delta^{18}O$	✓		
Подмор пчел	$\delta^{13}C$			✓
	$\delta^{15}N$			✓
	δD	✓		✓
	$\delta^{18}O$	✓		✓
Пыльцевая обножка	$\delta^{13}C$	✓		✓
	$\delta^{15}N$			✓
	δD	✓		
	$\delta^{18}O$	✓		
Мед	$\delta^{13}C$	✓	✓	
	δD	✓		
	$\delta^{18}O$	✓		
Белковая фракция меда	$\delta^{13}C$		✓	
	$\delta^{15}N$			✓
	δD	✓		
	$\delta^{18}O$	✓		

Анализ научных данных отечественных и зарубежных ученых показал, что метод изотопной масс-спектрометрии обширно используется в целях установления подлинности различных пищевых продуктов, в том числе и меда. Проведенный анализ нормативных документов выявил отсутствие аттестованных методик анализа изотопного состава продуктов пчеловодства. Существующие нормативные документы не предусматривают оценку географического происхождения меда и не защищает потребителей от информационной фальсификации. В данной работе предложена методика исследования изотопного состава легких элементов продукции пчеловодства, которая позволяет провести идентификацию медовой продукции, оценить географическое происхождение и установить факт фальсификации меда.

2 Предмет и объект исследования. Метод изотопной масс-спектрометрии легких элементов (С, N, H, O) продуктов пчеловодства

2.1 Предмет и объект исследований

Предметом проведенного исследования являлся состав стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, азота $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, водорода $^2\text{H}/^1\text{H}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в медовой продукции.

Объектами исследования являлись продукты пчеловодства (мед, подмор пчел, пыльцевая обножка, воск, прополис) и белковая фракция меда. В исследовании использовали образцы продуктов пчеловодства, приобретенные в 2016, 2019-2022 гг., как на медовых ярмарках, так и непосредственно на пасеках, располагающихся в регионах России. Отобраны монофлерные меда (липовый, рапсовый, акациевый, гречишный), смешанный – разнотравный мед и мед неизвестного цветочного происхождения.

Образцы продуктов пчеловодства отобраны непосредственно на пасеках, располагающихся на территории Томской области. Образцы из разных географических регионов России (Алтайского, Приморского и Краснодарского краев, Томской, Кемеровской, Калужской, Новосибирской, Пензенской, Курской, Липецкой и Белгородской областей, республик Адыгея, Башкортостан, Бурятия, Татарстан, Марий Эл, Мордовия и Крым) приобретены на медовых ярмарках и в медовых магазинах (рисунок 10).



Рисунок 10 – География мест отбора образцов продуктов пчеловодства на территории РФ

Всего собрано 120 образцов меда, 35 образцов пыльцевой обножки и 36 образцов подмора пчел, 33 образца воска и 33 образца прополиса. Также летом 2020 года и весной 2021 года собран 51 образец растений-медоносов, произрастающих в окрестностях Томска вдали от объектов городской инфраструктуры. Список собранных образцов с указанием географического происхождения показан в таблице 3.

Таблица 3 – Список собранных образцов с указанием географического места происхождения (указано количество образцов)

Место происхождения	Мед	Воск	Пыльцевая обножка	Прополис	Подмор пчел
Алтайский край	29	4	6	4	6
Томская область	41	21	16	20	17
Кемеровская область	6	3	2	3	3
Республика Бурятия	4				
Новосибирская область	1				
Краснодарский край	10	2	2	3	1
Республика Адыгея	3		1		1
Ростовская область			1		1
Республика Крым	1				
Приморский край	3				
Калужская область	5	3	2	3	3
Республика Татарстан	1		1		
Республика Марий Эл	1		1		1
Курская область	1		1		1
Липецкая область	1		1		1
Пензенская область	2		1		1
Мордовия	1				
Белгородская область	2				
Республика Башкортостан	7				
Белоруссия	1				
Итого образцов:	120	33	35	33	36

Принятая схема исследования приведена на рисунке 11.

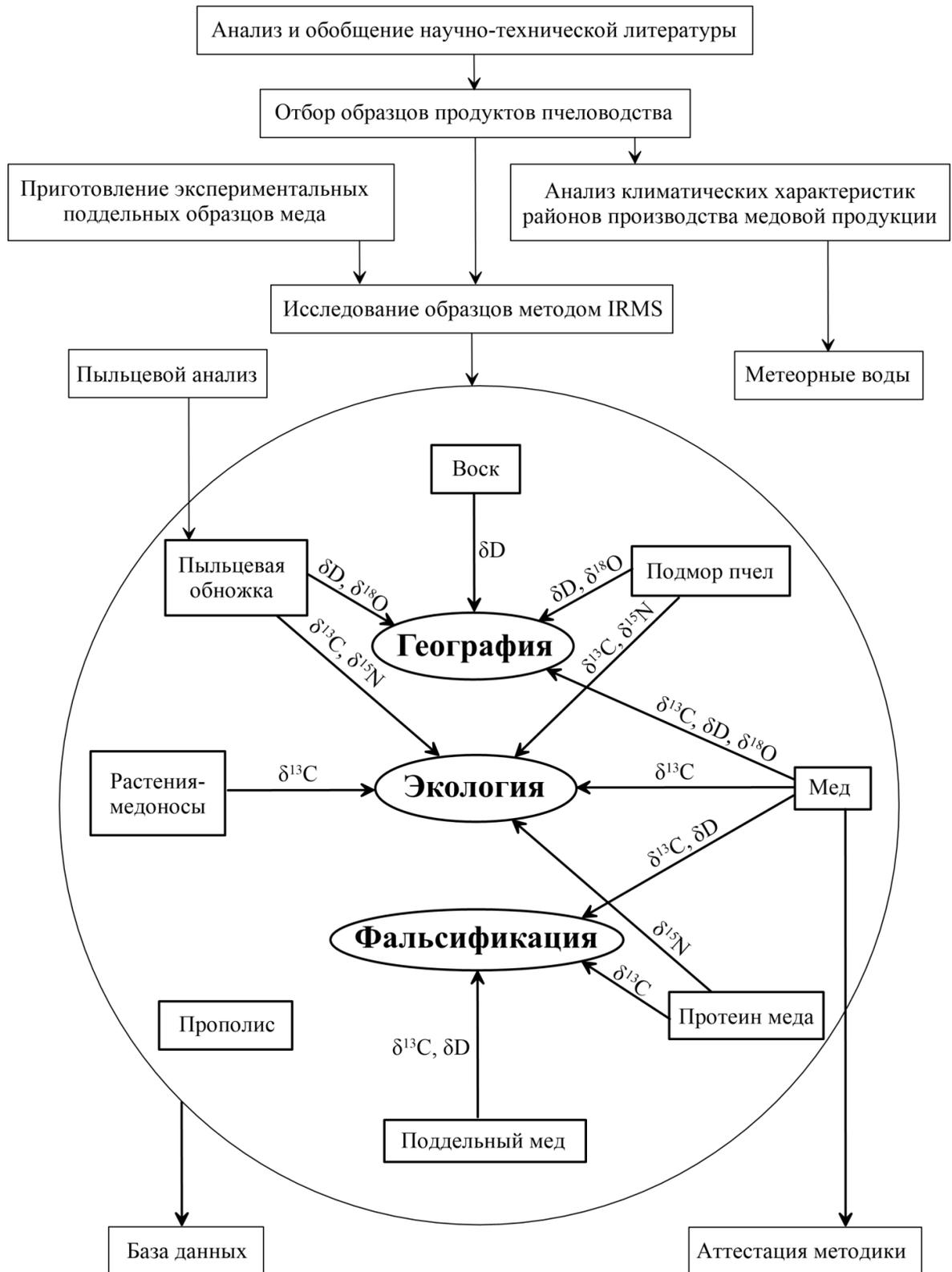


Рисунок 11 – Структурная схема исследования. В центре расположены области применения, стрелки соединяют объект исследования с областями применения с указанием над стрелками анализируемых величин изотопного состава

2.2 Отбор проб

Отбор проб меда проводили в соответствии с ГОСТ 19792—2017. «Межгосударственный стандарт. Мед натуральный. Технические условия» [42].

Незакристаллизованный мед перемешивали в упаковке. Пробы меда отбирали трубчатым пробоотборником диаметром 10-12 мм, погружая его вертикально на всю высоту. Пробоотборник извлекали, давали стечь меду с его наружной поверхности в специально подготовленную чистую и сухую упаковку (виалу). Закристаллизованный мед из упаковки отбирали коническим щупом длиной не менее 500 мм с прорезью по всей длине, погружая его под углом от края поверхности меда вглубь. Чистым, сухим шпателем отбирали пробы из верхней и нижней частей содержимого щупа, затем пробы объединяли, перемешивали и помещали в специально подготовленную чистую и сухую упаковку (виалу). При отборе проб для устранения фракционирования изотопов кислорода и водорода между медом и атмосферным воздухом контейнер с образцом меда заполняли под горлышко.

Отбор проб пыльцевой обножки проводили в соответствии с ГОСТ 28887-2019. «Межгосударственный стандарт. Пыльцевая обножка. Технические условия» [139]. Пробу пыльцевой обножки упаковывали в чистую без посторонних запахов упаковку (стеклянную виалу или полиэтиленовый герметичный пакет), обеспечивающую сохранность продукции и разрешенную для контакта с пищевыми продуктами.

Пробу подмора пчел отбирали, гомогенизировали и хранили в чистом герметичном полиэтиленовом пакете.

Из одной единицы прополиса и воска отбирали 5-6 точечных проб, смешивали и хранили в чистой упаковке (стеклянная виала или полиэтиленовый герметичный пакет) [140, 141].

Анализ проб производили до истечения установленного срока годности.

2.3 Пробоподготовка

2.3.1 Пробоподготовка образцов продуктов пчеловодства

Подготовка отобранных образцов продуктов пчеловодства для исследований проводилась по следующей схеме (рисунок 12). Образцы подмора пчел очищали от мусора и пыльцы, высушивали при 60°C в течение 48 ч. Пробы воска, прополиса и пыльцевой обножки выдерживали в эксикаторе 48 ч, в качестве осушителя использовали пентаоксид фосфора.

Экспериментально установили, что на фракционирование изотопов углерода в меде его влажность не влияет. Влажность меда определяли портативным рефрактометром. Образцы майского (раннего, весеннего с влажностью 21%) и июльского (летнего с влажностью 19%) медов выдерживали в эксикаторе в течение 6 дней. Изменение массы образцов за 6 дней составило менее 1%. Изотопный анализ углерода проводили на третьи и шестые сутки. Вариация величины $\delta^{13}\text{C}$ на третьи и шестые сутки составила $\pm 0,1\%$, что находится в пределах погрешности измерений [138].

Все образцы гомогенизировали, после чего навеску образца необходимой массы помещали в оловянные или серебряные капсулы (олово и серебро высокой степени чистоты). Необходимые массы навесок подбирались экспериментально. Аналитическим сигналом в IRMS является интенсивность ионного тока (I). Изотопный масс-спектр представлен на рисунке 13 – по оси X указано время в секундах, по оси Y – интенсивность сигнала в mV .

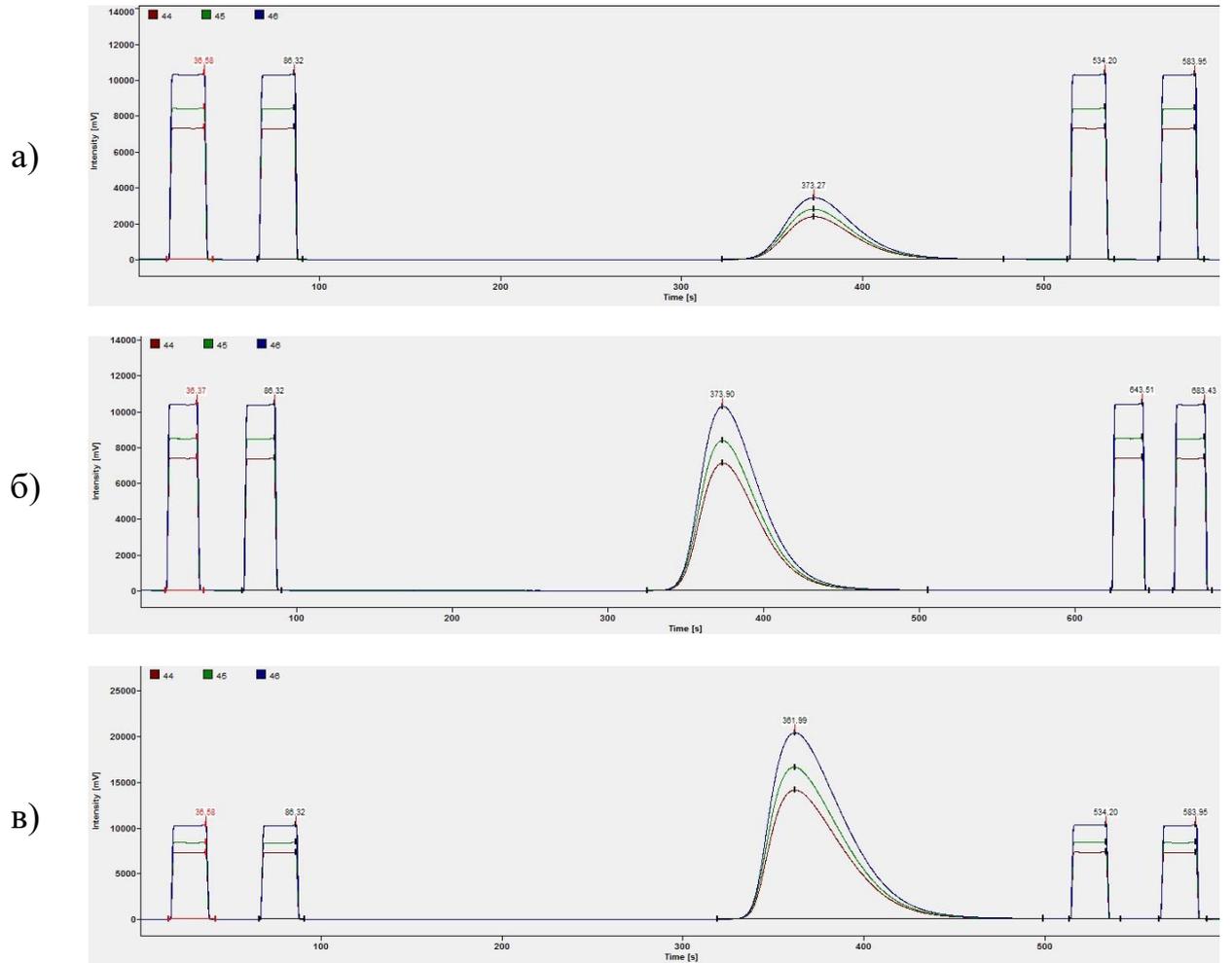
Интенсивность сигнала (высота пика) и площадь пика пропорциональны между собой (рисунок 14). Также установлено, что высота и площадь пика зависят от массы навески (рисунок 15).

Известно, что при проведении изотопного анализа необходимо стремиться к тому, чтобы аналитический сигнал образца был примерно равен сигналу газа-стандарта (рисунок 13 б). Полного равенства сигналов достичь невозможно, ввиду того, что технически сложно отобрать навеску образца необходимой массы с точностью до 1 мкг.

Для подбора оптимальной массы навески для анализа изотопного состава углерода исследована зависимость величины $\delta^{13}\text{C}$ стандарта меда от массы навески в диапазоне от 150 до 1200 мкг. Величина $\delta^{13}\text{C}$ стандарта меда USGS83 равна $-26,2 \pm 0,08\%$. График зависимости измеренной величины $\delta^{13}\text{C}$ стандарта от массы навески представлен на рисунке 16.



Рисунок 12 – Схема подготовки образцов продуктов пчеловодства для проведения изотопного анализа



а) I образца $< I$ газа-стандарта; б) I образца $\approx I$ газа-стандарта; в) I образца $> I$ газа-стандарта

Рисунок 13 – Изотопный масс-спектр

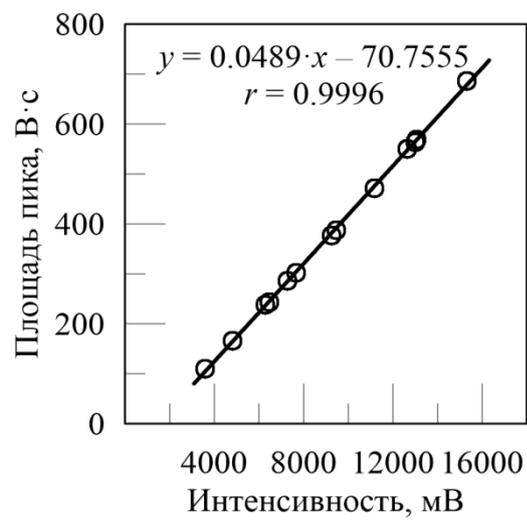
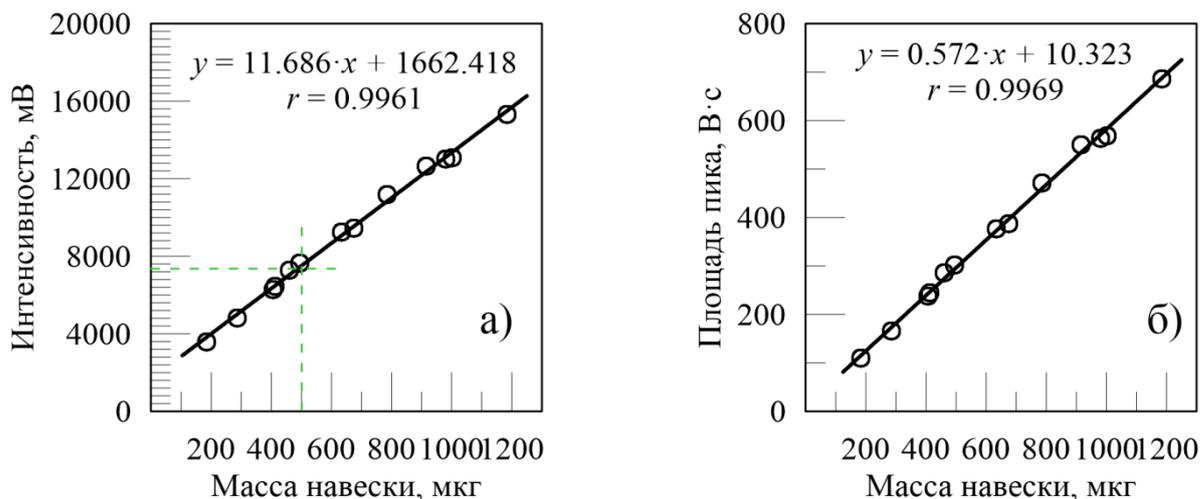


Рисунок 14 – Зависимость площади пика от высоты пика



а) интенсивность сигнала от массы навески; б) площадь пика от массы

Рисунок 15 – Зависимость аналитического сигнала от массы навески: горизонтальная штрихпунктирная линия соответствует среднему значению I сигнала газа-стандарта, равному 7360 мВ ($n=26$), вертикальная штрихпунктирная линия указывает на массу навески, которая соответствует среднему значению I сигнала газа-стандарта – 500 мкг

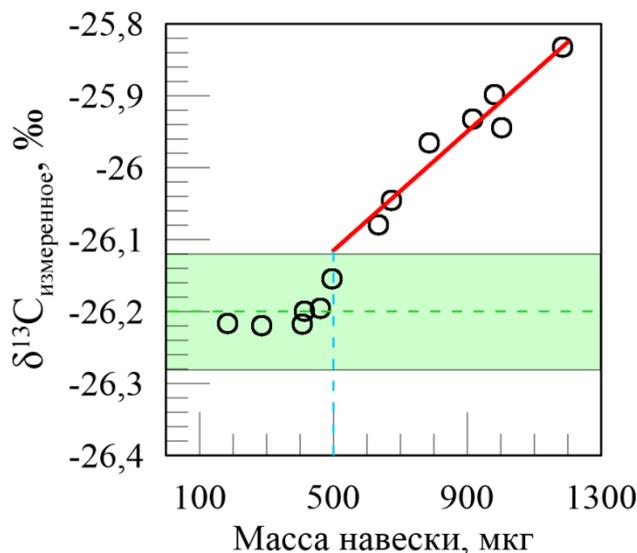


Рисунок 16 – Зависимость измеренной величины $\delta^{13}\text{C}$ стандарта меда USGS83 от массы навески: горизонтальная зеленая штрихпунктирная линия соответствует значению величины $\delta^{13}\text{C}$ стандарта меда USGS83 (-26,2‰), зеленый прямоугольник указывает на соответствующие границы абсолютной расширенной неопределенности измерений величины $\delta^{13}\text{C}$ на уровне достоверности 95% для стандарта меда USGS83 ($\pm 0,08\%$), вертикальная голубая штрихпунктирная линия указывает на массу навески, которая соответствует среднему значению I сигнала газа-стандарта – 500 мкг

В области масс менее 500 мкг масс-спектрометр измеряет величину $\delta^{13}\text{C}$ стандарта близко к паспортному значению (рисунок 16), а в области масс более 500 мкг величина $\delta^{13}\text{C}$ имеет линейную зависимость от массы навески и показывает тенденцию на увеличение – разница между измеренной величиной $\delta^{13}\text{C}$ и паспортной величиной $\delta^{13}\text{C}$ стандарта превышает допустимый установленный интервал погрешности измерения (рисунок 17). Следовательно, для верного определения величины $\delta^{13}\text{C}$ для образцов меда подходит навеска в диапазоне до 500 мкг. Однако так как при проведении изотопного анализа необходимо стремиться к равенству аналитических сигналов образца и газа-стандарта, при подборе наиболее оптимальной массы навески нужно учесть интенсивность сигнала газа-стандарта. Интенсивность сигнала газа-стандарта варьируется в пределах от 6000 до 7400 mV, что соответствует массе навески от 450 до 500 мкг. Таким образом, оптимальная масса навески образца меда для анализа изотопного состава углерода составляет 450-500 мкг. Подобным образом подбирались массы навесок для каждого продукта пчеловодства и для каждого вида анализа: анализа $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$ и δD . Все массы навесок указаны в схеме на рисунке 12.

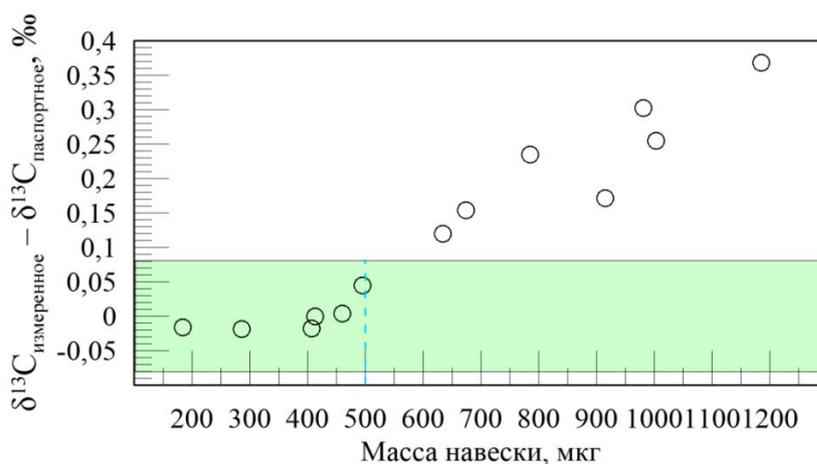


Рисунок 17 – Зависимость разницы между измеренной величиной $\delta^{13}\text{C}$ и паспортной величиной $\delta^{13}\text{C}$ стандарта от массы навески: зеленый прямоугольник указывает на границы абсолютной расширенной неопределенности измерений величины $\delta^{13}\text{C}$ на уровне достоверности 95% для стандарта меда USGS83 ($\pm 0,08\text{‰}$), вертикальная голубая штрихпунктирная линия указывает на оптимальную массу навески, которая и не выходит за пределы расширенной неопределенности измерений величины $\delta^{13}\text{C}$, и соответствует среднему значению I сигнала газа-стандарта – 500 мкг

2.3.2 Выделение белковой фракции меда

Экстрагирование белковой фракции меда проведено следующим образом. 20 г меда помещали в стеклянный термостойкий стакан, затем приливали 4 мл дистиллированной воды и нагревали на водяной бане, постоянно помешивая стеклянной палочкой. В отдельный стеклянный стакан помещали 4 мл 10%-ого раствора вольфрамата натрия Na_2WO_4 и приливали 4 мл 0,35М раствора серной кислоты H_2SO_4 . Полученную смесь добавляли в стакан с образцом меда, перемешивали и нагревали при 80°C в течение 10 мин. В процессе нагрева образовывались хлопья. Затем стакан снимали с плиты и охлаждали при комнатной температуре. После охлаждения смесь центрифугировали на 1500 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость сливали, а осадок (белковая фракция) центрифугировали, промывая дистиллированной водой 5 раз для удаления следов кислоты (рисунок 18). Осадок переносили в выпарительную чашку и высушивали в сушильном шкафу при 60°C 12 ч. Высушенный протеин гомогенизировали, герметично упаковывали в стеклянный флакон с завинчивающейся крышкой и хранили в холодильнике [4, 36].

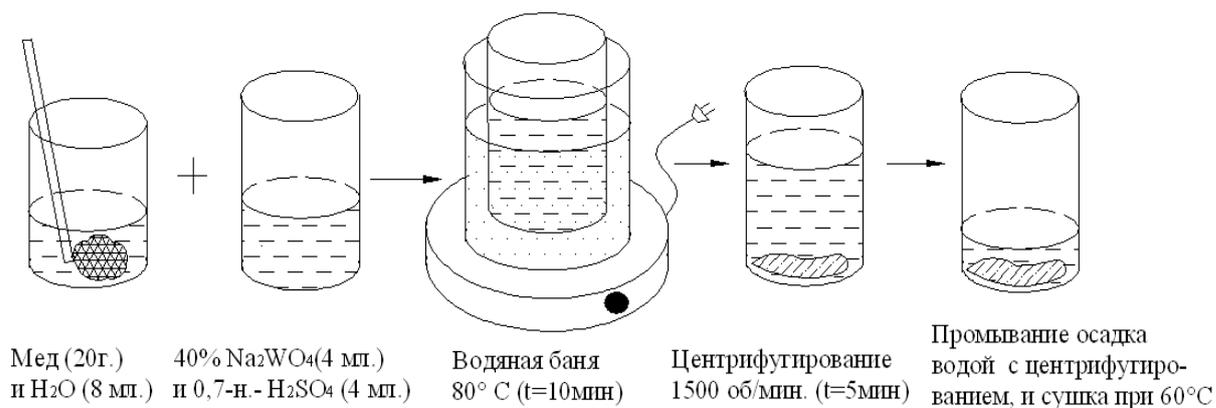


Рисунок 18 – Схематичное изображение методики выделения белковой фракции меда

2.4 Измерение отношений стабильных изотопов

Измерение изотопного состава общего углерода и азота в меде основано на мгновенном сгорании пробы в окислительно-восстановительном реакторе, заполненном Cr_2O_3 и гранулами Co_3O_4 , элементного анализатора. Запакованные в оловянные капсулы образцы с помощью автосамплера попадали в окислительный реактор, нагретый до температуры 1020°C , и сжигались в потоке газа-носителя (гелий, 250 мл/мин) с одновременно поданным чистым

кислородом (180 мл/мин). Полученные продукты окисления (CO_2 , N_xO_y) в потоке гелия (70 мл/мин) поступали в восстановительный реактор, где оксиды азота восстанавливались до N_2 . Для удаления воды использовали ловушку – стеклянную полу трубку, заполненную перхлоратом магния. После ловушки смесь газов N_2 и CO_2 попадала в хроматографическую колонку, нагретую до 45°C , разделялась на N_2 и CO_2 , которые поступали в масс-спектрометр DELTA V Advantage. Для измерения величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ пробы плотно и аккуратно запаковывали в серебряные капсулы, добиваясь устранения атмосферного воздуха. Сжигание проб проводилось в пиролизном реакторе без подачи кислорода при температуре реактора 1350°C , температуре печи 90°C , при скорости потока газа-носителя (He) 70 мл/мин. После сжигания продукты пиролиза в потоке гелия попадали через хроматографическую колонку в газораспределительную систему и далее в ионный источник масс-спектрометра.

Перед началом изотопного анализа проводили от 3 до 5 параллельных измерений следующих стандартов: IAEA-600 (кофеин), USGS82 (тропический Вьетнамский мед), USGS83 (канадский мед) и USGS90 (итальянская пшеничная мука). СКО (среднеквадратическое отклонение) измерений изотопного состава углерода и азота не превышало 0,1 и 0,4‰ соответственно. Перед началом определения изотопного состава кислорода $\delta^{18}\text{O}$ и водорода δD в пробах проводили измерения стандартов USGS82, USGS83 и USGS90 от 3 до 5 параллельных измерений. СКО измерений не превышало 0,4‰ для величины $\delta^{18}\text{O}$ и 4‰ для величины δD .

Значения изотопного состава выражаются в тысячных долях отклонения (промилле, ‰) от стандарта и рассчитываются согласно уравнениям:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = \frac{R_{\text{проба}} - R_{\text{стандарт}}}{R_{\text{стандарт}}} \cdot 1000 = \frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{проба}} - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{VPDB}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{VPDB}}} \cdot 1000, \quad (5)$$

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{AirN}_2} = \frac{R_{\text{проба}} - R_{\text{стандарт}}}{R_{\text{стандарт}}} \cdot 1000 = \frac{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}}\right)_{\text{проба}} - \left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}}\right)_{\text{AirN}_2}}{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}}\right)_{\text{AirN}_2}} \cdot 1000, \quad (6)$$

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = \frac{R_{\text{проба}} - R_{\text{стандарт}}}{R_{\text{стандарт}}} \cdot 1000 = \frac{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{проба}} - \left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{VSMOW}}}{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{VSMOW}}} \cdot 1000, \quad (7)$$

$$\delta D_{\text{VSMOW}} = \frac{R_{\text{проба}} - R_{\text{стандарт}}}{R_{\text{стандарт}}} \cdot 1000 = \frac{\left(\frac{{}^2\text{H}}{{}^1\text{H}}\right)_{\text{проба}} - \left(\frac{{}^2\text{H}}{{}^1\text{H}}\right)_{\text{VSMOW}}}{\left(\frac{{}^2\text{H}}{{}^1\text{H}}\right)_{\text{VSMOW}}} \cdot 1000, \quad (8)$$

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ – изотопный состав углерода в пробе относительно международного образца сравнения VPDB, (‰);

$\delta^{15}\text{N}_{\text{AirN}_2}$ – изотопный состав азота в пробе относительно международного образца сравнения Air, (‰);

$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ – изотопный состав кислорода относительно международного стандарта VSMOW, (‰).

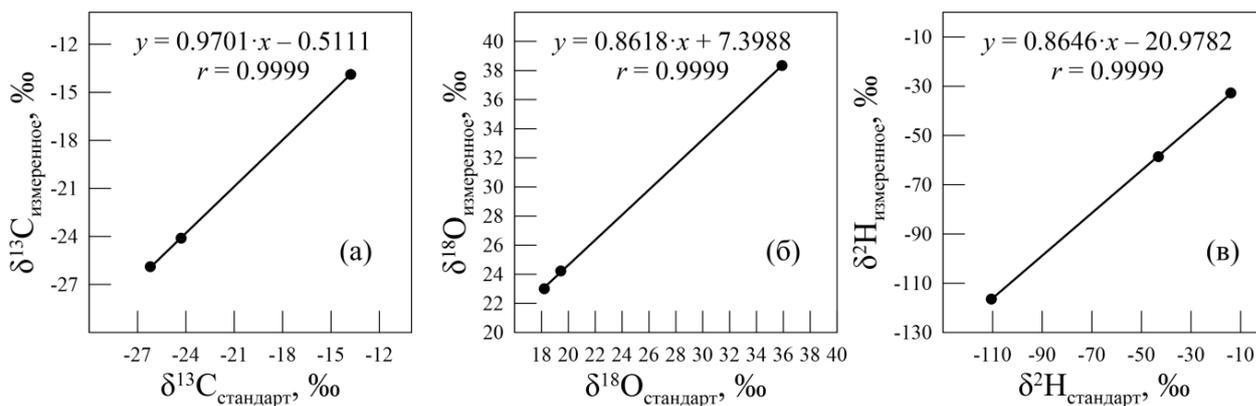
δD_{VSMOW} – изотопный состав водорода относительно международного стандарта VSMOW, (‰).

$R_{\text{проба}}$ и $R_{\text{стандарт}}$ – отношение тяжелого изотопа к легкому в анализируемой пробе и международном стандарте соответственно.

Лабораторные рабочие газы сравнения CO_2 и N_2 калибровали по международному стандартному образцу МАГАТЭ – IAEA-600 Caffeine с известной величиной отношения стабильных изотопов: $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -27,771 \pm 0,043\text{‰}$ и $\delta^{15}\text{N}_{\text{airN}_2} = 1,0 \pm 0,2\text{‰}$.

Измеренные величины изотопного состава углерода, азота, кислорода и водорода пересчитывали с использованием градуировочных графиков для определения истинного значения изотопного состава. Градуировочная прямая для определения изотопного состава углерода, построенная по международным стандартным образцам различного состава (USGS82 — тропический Вьетнамский мед, USGS 83 — мед из прерий Канады, USGS90 — пшеница из Тосканы), при использовании элементного анализатора, соединенного с изотопным масс-спектрометром, показана на рисунке 19 (а). Она представляет собой прямую линию с коэффициентом корреляции, равными 0,9999. Для изотопного состава азота градуировочную прямую строили аналогичным способом по международному стандартному образцу IAEA-600 Caffeine и внутрилабораторному стандарту муки, истинные значения величин изотопного состава которого получены путем калибровки по международным стандартам (таблица 4).

На график (рисунок 19) по оси ординат – Y – наносят измеренные значения изотопного состава, а по оси абсцисс – X – паспортные значения. По методу «наименьших квадратов» определяют величину наклона линии – k («наклон») и величину свободного члена – b («отрезок»), а так же коэффициент детерминации – r . Полученные уравнения использовали для расчёта содержания стабильных изотопов в реальной пробе.



а) для углерода, б) для кислорода, в) для водорода

Рисунок 19 – Примеры градуировочных графиков

Таблица 4 – Международные и внутрилабораторный стандартные образцы

Название	Вещество	Величины изотопного состава
USGS82	тропический Вьетнамский мед	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -24,31 \pm 0,08\%$ $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = +19,44 \pm 0,36\%$ $\delta\text{D}_{\text{VSMOW}} = -43,1 \pm 3,7\%$
USGS83	мед из прерий Канады	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -26,20 \pm 0,08\%$ $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = +18,13 \pm 0,11\%$ $\delta\text{D}_{\text{VSMOW}} = -10,5 \pm 3,5\%$
USGS90	пшеничная мука из Тосканы, Италия	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -13,78 \pm 0,06\%$ $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = +35,9 \pm 0,29\%$ $\delta\text{D}_{\text{VSMOW}} = -13,9 \pm 2,4\%$ $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air}} = +8,84 \pm 0,17\%$
IAEA-600	кофеин	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -27,771 \pm 0,043\%$ $\delta^{15}\text{N}_{\text{AirN2}} = 1,0 \pm 0,2\%$
ИМКЭС1	мука пшеничная, Яшкино	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -25,89 \pm 0,06\%$ $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = +20,6 \pm 0,3\%$ $\delta\text{D}_{\text{VSMOW}} = -84,7 \pm 2,1\%$ $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air}} = +3,4 \pm 0,2\%$

Градуировочный график, полученный при определении изотопного состава кислорода в образцах методом TC/EA-IRMS (пиролитический реактор, соединенный с масс-спектрометром), изображен на рисунке 19 (б). Для построения градуировочной прямой использовали стандарты меда (USGS82 и USGS83) и стандарт пшеничной муки USGS90. Градуировочный график имеет тангенс угла наклона близкий к единице, и коэффициент корреляции равен 0,9996.

Градуировочная прямая для определения изотопного состава водорода показана на рисунке 19 (в). Она представляет собой прямую линию в широком диапазоне изотопного состава водорода (от -130 до 0%). Тангенс угла наклона графика близок к единице, коэффициент корреляции составляет 0,9999.

Контроль и расчет результатов измерения проведен с помощью в специализированного программного обеспечения для масс-спектрометра Delta V – «Gas Isotope Ratio MS Software ISODAT 3.0», которое позволяет проводить дистанционную настройку и контроль работы оборудования, регистрирует все измеряемые параметры, а также проводит обработку результатов, включая статистический анализ измеренного значения.

Метод масс-спектрометрии позволяет определять изотопный состав всех газообразующих элементов с погрешностью от 0,1 до 2–3%. [142]. Инструментальная погрешность (СКО выходного сигнала), не более: для углерода – 0,2‰; для азота – 0,15‰; для кислорода – 0,4‰; для водорода – 3,0‰.

2.5 Контроль качества результатов анализа изотопного состава

Согласно ГОСТ ISO/IEC 17025 [143] испытательной лаборатории, применяющей методики химического анализа, необходимо располагать процедурами управления качеством в целях контроля достоверности проведенных анализов. Основным элементом, подтверждающим достоверность результатов анализа, является осуществление в лаборатории процедуры внутреннего контроля качества результатов анализа [144]. Контрольная процедура для контроля точности (КПКТ) результатов анализа проведена с применением образцов для контроля (ОК) согласно РМГ 76-2014 [144]. Использование КПКТ с применением ОК предпочтительно, так как позволяет оценить выполнение процедуры анализа в целом. Так как ОК должны быть адекватны анализируемым пробам, в качестве ОК использованы стандарты Геологической службы США: USGS82 – тропический Вьетнамский мед, USGS83 – канадский мед, USGS90 – итальянская пшеничная мука (таблица 4).

При реализации контрольной процедуры получают результат контрольного измерения аттестованной характеристики образца для контроля \bar{X} (за результат контрольного измерения принимают среднеарифметическое значение результатов параллельных определений) и сравнивают его с аттестованным значением C .

Результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{X} - C. \quad (9)$$

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \Delta_n, \quad (10)$$

где $\pm\Delta_n$ – значение интервальной оценки показателя точности результатов анализа, соответствующее аттестованному значению ОК (берется из паспорта на стандартное вещество).

Сопоставляют результат контрольной процедуры K_k с нормативом контроля K . Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию

$$|K_k| \leq K, \quad (11)$$

то процедуру анализа признают удовлетворительной.

Результаты расчета представлены в таблице 5. Из таблицы видно, что для всех ОК определяемые показатели измеряются с высоким уровнем точности (для всех показателей результат контрольной процедуры меньше норматива контроля).

Таблица 5 – Проверка точности результатов

Образец для контроля (ОК)	USGS82			USGS83			USGS90			
	δD	$\delta^{13}C$	$\delta^{18}O$	δD	$\delta^{13}C$	$\delta^{18}O$	δD	$\delta^{13}C$	$\delta^{18}O$	$\delta^{15}N$
Определяемый показатель										
Аттестованное значение ОК (С)	-43,1	-24,31	19,44	-110,5	-26,2	18,2	-13,9	-13,75	35,9	8,84
Погрешность аттестованного значения ОК (К)	3,7	0,08	0,36	3,5	0,08	0,25	2,4	0,06	0,29	0,17
X_1	-43,6	-24,24	19,65	-110,4	-26,08	18,01	-13,6	-13,84	35,88	8,94
X_2	-43,5	-24,42	19,73	-111,7	-26,27	17,96	-12,6	-13,71	35,59	8,98
X_3	-43,7	-24,47	19,79	-110,9	-26,15	17,95	-13,1	-13,80	35,48	9,05
\bar{X}	-43,6	-24,38	19,72	-111,0	-26,17	17,97	-13,1	-13,78	35,65	8,99
K_k	-0,5	-0,07	0,28	-0,5	0,03	-0,23	0,8	-0,03	-0,25	0,15
Заключение	удов.	удов.	удов.	удов.	удов.	удов.	удов.	удов.	удов.	удов.

2.6 Метрологическая оценка точности измерений

В соответствии с нормативным документом РМГ 61-2010 [145] проведена оценка показателей повторяемости, промежуточной прецизионности и правильности методики анализа.

1. Оценка показателя повторяемости методики анализа

Среднее арифметическое – $X_{m,l}$ – результатов анализа, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений), рассчитывает по формуле:

$$X_{m,l} = \frac{\sum_{i=1}^N X_{m,l,i}}{N} \quad (12)$$

где $m = 1, \dots, M$ – номер образца для оценивания;

$l = 1, \dots, L$ – номер серии результатов анализа;

$i = 1, \dots, N$ – номер результата единичного анализа.

Выборочную дисперсию – $S_{m,l}^2$ – результатов анализа, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений), рассчитывают по формуле:

$$S_{m,l}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (X_{m,l,i} - X_{m,l})^2}{N - 1} \quad (13)$$

Посчитав значения выборочных дисперсий, проверяют гипотезу о равенстве генеральных дисперсий при помощи критерия Кохрена. Значение критерия Кохрена рассчитывают по формуле

$$G_{m(\max)} = \frac{(S_{m,l}^2)_{\max}}{\sum_{l=1}^L S_{m,l}^2} \quad (14)$$

и сравнивают его с табличным значением критерия Кохрена – $G_{\text{табл}}$ – для числа степеней свободы $\nu = N - 1$, соответствующего максимальной дисперсии, и $f = L$, соответствующего числу суммируемых дисперсий, и принятой доверительной вероятности $P = 0,95$. Значения $G_{\text{табл}}$ приведены в таблице И.1 приложения И РМГ 61-2010. Если $G_{m(\max)} > G_{\text{табл}}$, то соответствующее $(S_{m,l}^2)_{\max}$ исключают из дальнейших расчетов и повторяют проверку до тех пор, пока $G_{m(\max)}$ не станет меньше либо равно $G_{\text{табл}}$.

Неисключенные из расчетов $S_{m,l}^2$ считают однородными и по ним оценивают среднее квадратическое отклонение повторяемости – $S_{r,m}$ – по формуле

$$S_{r,m} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{L'} S_{m,l}^2}{L'}} \quad (15)$$

где суммируются не отброшенные значения дисперсий, L' – число неотброшенных дисперсий.

Показатель повторяемости методики анализа в виде СКО – $\sigma_{r,m}$ – принимают равным $S_{r,m}$

$$\sigma_{r,m} \approx S_{r,m} \quad (16)$$

2. Оценка показателя промежуточной прецизионности

Проводят проверку средних значений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности $X_{m,L}$ на наличие выбросов по критерию Граббса. Для результатов анализа каждого образца для оценивания находят максимальное ($X_{m,\max}$) и минимальное ($X_{m,\min}$) средние значения.

Общее среднее значение результатов анализа, полученных в условиях промежуточной прецизионности, $- X_m$ – рассчитывают по формуле:

$$X_m = \frac{\sum_{l=1}^L X_{m,l}}{L} \quad (17)$$

где $X_{m,l}$ – среднее арифметическое результатов анализа, полученных в условиях повторяемости;

L – число серий результатов анализа.

Среднеквадратическое отклонение средних арифметических результатов анализа, полученных в условиях повторяемости, рассчитывают по формуле:

$$S_m = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^L (X_{m,l} - X_m)^2}{L-1}} \quad (18)$$

Статистики Граббса рассчитывают по следующим формулам:

$$GR_{m,\max} = \frac{X_{m,\max} - X_m}{S_m} \quad (19)$$

$$GR_{m,\min} = \frac{X_m - X_{m,\min}}{S_m} \quad (20)$$

Рассчитанные статистики Граббса сравнивают с критическим значением $GR_{\text{табл}}$ для числа степеней свободы $f = L$, соответствующего числу серий результатов анализа, и принятой доверительной вероятности $P = 0,95$. Значения $GR_{\text{табл}}$ приведены в таблице И.2 приложения И РМГ 61-2010. Если $GR_{m,\max} > GR_{\text{табл}}$ или/и $GR_{m,\min} > GR_{\text{табл}}$, то соответствующие результаты $X_{m,\max}$ или/и $X_{m,\min}$ из дальнейших расчетов исключают. Расчет продолжают до тех пор, пока $GR_{m,\max} \leq GR_{\text{табл}}$ и $GR_{m,\min} \leq GR_{\text{табл}}$.

СКО результатов анализа m -го образца для оценивания, полученных в условиях промежуточной прецизионности, $- S_{R,m}$ – рассчитывают по формуле

$$S_{R,m} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{L'} (X_{m,l} - X'_m)^2}{L'-1} + \left(\frac{1}{N} - \frac{1}{n}\right) S_{r,m}^2} \quad (21)$$

где L' – число неотброшенных результатов;

X'_m – среднее арифметическое неотброшенных результатов;

N – количество параллельных определений, предусмотренных методикой ($N=3$);

n – количество параллельных определений в каждой серии результатов анализа ($n=3$);

$S_{r,m}^2$ – среднее квадратическое отклонение повторяемости.

Показатель промежуточной прецизионности методики анализа в виде СКО – $\sigma_{R,m}$ устанавливают, принимая равным СКО средних арифметических результатов анализа – $S_{R,m}$:

$$\sigma_{R,m} \approx S_{R,m} \quad (22)$$

3. Оценка показателя правильности методики анализа

Рассчитывают значение смещения – Θ_m – по формуле:

$$\Theta_m = X_m - C_m \quad (23)$$

где X_m – общее среднее значение результатов анализа;

C_m – аттестованное значение образца для оценивания.

Значимость вычисленных значений Θ_m проверяют по критерию Стьюдента. Для этого рассчитывают t -критерий по формуле:

$$t_m = \frac{|\Theta_m|}{\sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{o,m}^2}{3}}} \quad (24)$$

где $\Delta_{o,m}^2$ – погрешность аттестованного значения образца для оценивания.

Рассчитанное значение сравнивают с $t_{\text{табл}}$ при числе степеней свободы $f = L-1$ для доверительной вероятности $P = 0,95$. Значения $t_{\text{табл}}$ приведены в таблице И.3 приложения И РМГ 61-2010. Если $t_m < t_{\text{табл}}$, то оценка смещения незначима, и в этом случае ее принимают равной нулю ($\Theta_m = 0$). При незначимости Θ показатель правильности методики анализа рассчитывают по формуле:

$$\Delta_{c,m} = 1.96 \sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{o,m}^2}{3}} = 1.96 \sigma_{c,m} \quad (25)$$

4. Оценка показателя точности методики анализа

Показатель точности методики анализа в условиях воспроизводимости или внутрилабораторной прецизионности для принятой вероятности $P=0,95$ рассчитывают по формуле

$$\Delta_m = 1.96 \sqrt{\sigma_{R,m}^2 + \sigma_{c,m}^2} = 1.96 \sigma(\Delta_m) \quad (26)$$

Рассчитанные показатели представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Показатели повторяемости методики анализа, промежуточной прецизионности, правильности и точности методики анализа

Измеряемая величина	Диапазон измерений, ‰	Показатель повторяемости методики анализа $\sigma_{г,м}$, ‰	Показатель промежуточной прецизионности $\sigma_{Р,л,м}$, ‰	Показатель правильности методики $\Delta_{с,м}$, ‰	Показатель точности методики $\Delta_{м}$, ‰
$\delta^{13}C_{VPDB}$	от -30,00 до -20,00	0,05	0,03	0,09	0,10
$\delta^{15}N_{Air}$	от -10,0 до 20,0	0,08	0,09	0,21	0,27
$\delta^{18}O_{VSMOW}$	от 10,0 до 30,0	0,12	0,14	0,14	0,46
δD_{VSMOW}	от -130 до +10	0,47	0,60	3,67	3,89

2.7 Предварительная метрологическая аттестация методики

Проведена предварительная метрологическая аттестация методики. При соблюдении всех регламентированных условий значение неопределенности (погрешности и её составляющих) результатов измерений не превышают значений, приведенных в таблице 7. Расчет всех показателей произведен в соответствии с [144, 146–149].

Таблица 7 – Требования к показателям точности измерений

Измеряемая величина	Диапазон измерений, ‰	Стандартная неопределенность, оцененная по типу А, ‰	Стандартная неопределенность, оцененная по типу В, ‰	Абсолютная расширенная неопределенность* (при коэффициенте охвата $k = 2$), U, ‰
$\delta^{13}C_{VPDB}$	от -30,00 до -20,00	0,09	0,04	0,2
$\delta^{15}N_{Air}$	от -10,0 до 20,0	0,20	0,08	0,4
$\delta^{18}O_{VSMOW}$	от 10,0 до 30,0	0,6	0,2	1,3
δD_{VSMOW}	от -130 до +10	3,3	1,9	8

Примечания:

1) Результат измерений ($\delta^{13}C_{VPDB}$, $\delta^{15}N_{Air}$, $\delta^{18}O_{VSMOW}$, δD_{VSMOW} , ‰) формируется на основе усреднения пяти аналитических сигналов, полученных для одной пробы меда. Аналитический сигнал – показание изотопного масс-спектрометра.

2) *Соответствует границам суммарной абсолютной погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$.

1. Вычисление стандартной неопределенности по типу А.

Исходными данными для вычисления стандартной неопределенности по типу А – u_A – являются результаты многократных измерений: x_1, \dots, x_n (где n — число измерений входной величины). Стандартную неопределенность единичного измерения вычисляют по формуле:

$$u_A = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}, \quad (27)$$

где \bar{x} – среднее арифметическое результатов измерений.

2. Вычисление стандартной неопределенности по типу В.

В качестве исходных данных для вычисления стандартной неопределенности по типу В – u_B – используют:

- данные предшествовавших измерений величин, входящих в уравнение измерения;
- данные, основанные на опыте исследователя или общих знаниях о поведении и свойствах соответствующих приборов и материалов;
- неопределенности констант и справочных данных;
- данные поверки, калибровки, сведения изготовителя о приборе и т. п.

Стандартную неопределенность единичного измерения по типу В вычисляют по формуле:

$$u_B = \frac{u_i}{f(x)}, \quad (28)$$

где u – исходные данные, например, данные неопределенности, указанные в калибровочных и других сертификатах стандартного образца;

$f(x)$ – коэффициент для нормального распределения, соответствующий указанному в сертификате стандартного образца уровню достоверности (90, 95 или 99%). Коэффициенты, соответствующие вышеперечисленным трем уровням достоверности, составляют 1,64; 1,96; и 2,58.

3. Абсолютная расширенная неопределенность.

Абсолютная расширенная неопределенность – U – это величина, определяющая интервал вокруг результата измерений, в пределах которого находится большая часть распределения значений, которые с достаточным основанием могли бы быть приписаны измеряемой величине. При нормальном законе распределения ($k = 2$ при $p \approx 0,95$) абсолютная расширенная неопределенность считается по формуле:

$$U = 2\sqrt{u_A^2 + u_B^2}. \quad (29)$$

2.8 Программное обеспечение. Методы обработки данных

Для статистической обработки данных использовался язык R, все расчеты производились в среде RStudio. Базовая статистика включала количество, среднее значение (среднее арифметическое), медианное значение, среднеквадратичное отклонение (СКО), минимум, максимум и размах выборки.

Для анализа взаимосвязи между соотношением изотопов метеорных вод и соотношением изотопов водорода и кислорода меда использовались интерполированные значения величин δD и $\delta^{18}O$ метеорных вод (рисунок 20), ранее полученные по сети GNIP (Global Network of Isotopes in Precipitation) для сопредельных территорий с использованием онлайн-калькулятора, размещенного на портале Waterisotopes Database [150].

Main

Information

Data Products

Web Resources

Waterisotopes Database





OIPC: THE ONLINE ISOTOPES IN PRECIPITATION CALCULATOR

[Citing the OIPC](#)

Estimates for latitude 58°, longitude 82°, altitude 80 m:
(Томская область)

	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov	Dec
δ^2H (‰, V-SMOW)	-173	-182	-184	-115	-93	-89	-83	-94	-75	-148	-194	-227
$\delta^{18}O$ (‰, V-SMOW)	-23.2	-23.4	-23.5	-14.5	-10.9	-11.6	-9.8	-11.2	-9.3	-19.9	-26.0	-30.3

Estimates for latitude 45°, longitude 39°, altitude 30 m:
(Краснодарский край)

	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov	Dec
δ^2H (‰, V-SMOW)	-98	-88	-79	-50	-32	-24	-14	-18	-27	-44	-59	-80
$\delta^{18}O$ (‰, V-SMOW)	-13.7	-12.2	-10.9	-7.2	-5.0	-3.8	-2.5	-3.0	-4.5	-6.8	-8.8	-11.4

[Isoscapes: Understanding Movement, Pattern, and Process on Earth Through Isotope Mapping](#)
 (ed. West, Bowen, Dawson and Tu; Springer)

All material copyright 2003-2019 by [Gabriel Bowen](#) | Supported by [CHPC](#) at the [University of Utah](#)
 Contact me: gabe.bowen@utah.edu

Рисунок 20 – Онлайн калькулятор изотопов в осадках [150]

Мелиссопалинологический качественный анализ проведен для определения содержания пыльцевых зерен в образцах пыльцевой обножки медоносных пчел. Подготовка микропрепаратов из пыльцевой обножки заключалась в очистке от посторонних примесей (ножки, крылья пчел и др.), размягчением в дистиллированной водой. После полного размягчения (10-20 минут) удаляли жидкость и из осадка делали мазок на чистое предметное

стекло. После подсыхания пыльцу фиксировали каплей 76%-ного спирта. Излишки жидкости удаляли и накрывали препарат покровным стеклом. При подготовке микрофотографий пыльцевых зерен в пыльцевой обножке медоносных пчел использовался оптический микроскоп Атом 40^x–800^x (объектив 10^x, Микромед) с USB-камерой. Идентификация пыльцевых зерен осуществлялась при помощи пыльцевого атласа [151] и электронных баз данных [152].

3 Изотопные характеристики продуктов пчеловодства

3.1 Изотопные характеристики воска

На сегодняшний день известно более трех сотен веществ, которые содержатся в воске. Среди них $\frac{3}{4}$ составляют сложные жиры, а где-то половина из оставшихся компонентов приходится на свободные жирные кислоты. Также в воске присутствуют углеводороды парафинового ряда, ароматические масла, оксикислоты, кетокислоты, тритерпены, холестерин, различные минеральные вещества, смолы, растительные пигменты и многое другое. В таблице А1 приложения А представлены результаты анализа изотопного состава всех восков.

Величина $\delta^{13}\text{C}$ образцов воска варьируется в пределах от $-30,3$ до $-27,4\text{‰}$ (таблица 8). Среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ равно $-28,6 \pm 0,6\text{‰}$. Гистограмма распределения величин $\delta^{13}\text{C}$ и диаграмма размаха числовых значений величины $\delta^{13}\text{C}$ показаны на рисунке 21. В работах [10, 153] представлены результаты анализа изотопного состава углерода новозеландских и немецких образцов меда, воска и пыльцы. Диапазон значений величины $\delta^{13}\text{C}$ новозеландских образцов воска варьировался от $-26,8$ до $-23,2\text{‰}$, а немецких образцов лежал в пределах от $-29,9$ до $-27,9\text{‰}$. Для образцов воска из сибирских регионов (Алтайский край, Томская и Кемеровская области), а также для воска из Калужской области диапазоны величины $\delta^{13}\text{C}$ показал значения схожие со значениями величины $\delta^{13}\text{C}$, полученными немецкими учеными.

Таблица 8 – Основная описательная статистика изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) всех образцов воска по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
воск (все образцы)	33	-28,6	-28,6	0,6	-30,3	-27,4	2,9
Алтайский край	4	-29,0	-28,7	0,9	-30,3	-28,4	1,9
Томская область	21	-28,6	-28,6	0,4	-29,4	-27,8	1,6
Кемеровская область	3	-28,8	-29,0	0,5	-29,2	-28,2	1,0
Калужская область	3	-29,0	-28,9	0,8	-29,8	-28,2	1,6
Краснодарский край	2	-27,7	-27,7	0,4	-28,0	-27,4	0,6

Среднее значение величины δD равно $-282,0 \pm 24,2\text{‰}$. Величина δD всех образцов воска варьируется в пределах от $-308,6$ до $-202,3\text{‰}$ (таблица 9). Гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины δD показаны на рисунке 21. Полученный диапазон согласуется с данными американских ученых: диапазон значений величины δD образцов воска из США изменяется в пределах от -310 до -205‰ [21]. Самые низкие значения

величины δD показали образцы воска из сибирских регионов, самые высокие – образцы воска из европейской части России и черноморского региона.

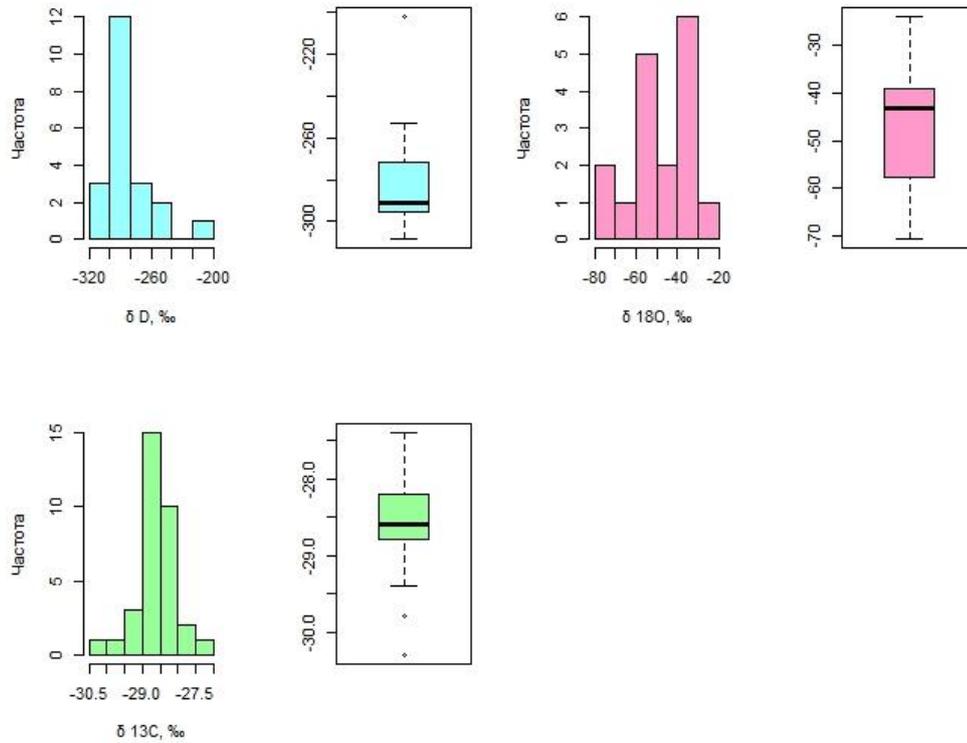


Рисунок 21 – Гистограммы распределения величин $\delta^{13}C$, δD , $\delta^{18}O$ воска и диаграммы размаха числовых значений тех же величины: диапазон между первым и третьим квартилем распределения заключен в рамку, вертикальные линии («усы») на нижнем и верхнем конце оси рамки представляют минимальные и максимальные значения, которые не считаются экстремальными значениями, вертикальная линия в рамке – медиана распределения; точками обозначены экстремальные значения

Таблица 9 – Основная описательная статистика изотопного состава водорода (δD , ‰) всех образцов воска по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
воск (все образцы)	21	-282,0	-290,7	24,2	-308,6	-202,3	106,3
Томская область	14	-291,4	-292,1	7,5	-302,2	-271,8	30,5
Кемеровская область	2	-250,7	-250,7	68,4	-299,0	-202,3	96,7
Калужская область	2	-257,1	-257,1	5,9	-261,2	-252,9	8,3
Краснодарский край	2	-259,1	-259,1	6,4	-263,6	-254,5	9,1

Согласно литературным данным [74, 154], липиды растений (или любого другого органического вещества) обеднены тяжелым изотопом водорода (^2H), поэтому величина δD липидов примерно на 150–300‰ (липиды с прямой цепью обеднены дейтерием на 150–200‰ по сравнению с водой, изопреноидные липиды обеднены примерно на 200–300‰) легче по сравнению с исходной потребляемой водой. Этот факт объясняет столь низкие значения величины δD воска, так как воск на 3/4 состоит из липидов и жирных кислот.

Величина $\delta^{18}\text{O}$ образцов воска варьируется в пределах от $-70,8$ до $-24,0$ ‰ (таблица 10). Среднее значение величины $\delta^{18}\text{O}$ равно $-47,5 \pm 13,2$ ‰. Гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины $\delta^{18}\text{O}$ показаны на рисунке 21. Работ по исследованию изотопного состава кислорода в образцах воска не найдено.

Процентное содержание азота в воске очень мало, поэтому провести измерения величины $\delta^{15}\text{N}$ для воска данным методом не представляется возможным.

Таблица 10 – Основная описательная статистика изотопного состава кислорода ($\delta^{18}\text{O}$, ‰) всех образцов воска по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
воск (все образцы)	17	-47,5	-43,3	13,2	-70,8	-24,0	46,8
Томская область	11	-46,2	-39,8	15,7	-70,8	-24,0	46,8
Калужская область	2	-50,6	-50,6	10,3	-57,8	-43,3	14,5
Краснодарский край	2	-50,3	-50,3	0,4	-50,6	-50,0	0,6

3.2 Изотопные характеристики прополиса

Прополис – вещество смолистого типа, производимое в процессе деятельности пчел. Данный продукт, как и мед, образуется на основе растительных элементов. Прополис не имеет единого состава [138]. Состав прополиса зависит от нескольких факторов: от вида растений, которые использованы при сборе нектара; от состояния, в котором находились пчелы в момент сбора; от времени года, когда произведено вещество. Процентное соотношение прополиса выглядит следующим образом: 50–60% – смолы и пыльцевой бальзам, 30% – воск, добавляемый пчелами, 10% – различные варианты растительных веществ, обладающих индивидуальными свойствами. Процент содержания пыльцы не превышает 5% [155]. Все это делает интерпретацию данных по прополису очень сложной.

В таблице А2 приложения А представлены результаты анализа изотопного состава всех образцов прополиса. Величина $\delta^{13}\text{C}$ всех образцов прополиса варьируется в пределах от $-28,5$ до $-24,4$ ‰. Среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ равно $-27,4 \pm 0,7$ ‰ (таблица 11). Величина $\delta^{15}\text{N}$

всех образцов прополиса варьируется в пределах от +0,4 до +11,2‰ (таблица 12). Среднее значение величины $\delta^{15}\text{N}$ равно $+4,2 \pm 2,6\text{‰}$. Гистограмма распределения величин $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ и диаграммы размаха числовых значений этих величин образцов прополиса показаны на рисунке 22. К сожалению, на стадии поиска литературы не удалось обнаружить ни одного источника по изучению изотопного состава прополиса.

Таблица 11 – Основная описательная статистика изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) всех образцов прополиса

Объект исследования	<i>n</i>	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
прополис (все образцы)	33	-27,4	-27,6	0,7	-28,5	-24,4	4,1
Алтайский край	4	-26,8	27,3	1,8	-28,3	-24,4	3,9
Томская область	20	-27,5	-27,6	0,3	-27,9	-26,8	1,1
Кемеровская область	3	-27,7	-28,1	1,0	-28,5	-26,6	1,9
Калужская область	3	-27,2	-27,2	0,4	-27,6	-26,8	0,8
Краснодарский край	3	-27,6	-27,7	0,3	-27,8	-27,2	0,6

Таблица 12 – Основная описательная статистика изотопного состава азота ($\delta^{15}\text{N}$, ‰) всех образцов прополиса

Объект исследования	<i>n</i>	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
прополис (все образцы)	33	4,2	4,1	2,6	0,4	11,2	10,8
Алтайский край	4	7,1	7,5	2,2	4,1	9,3	5,2
Томская область	20	3,1	2,8	2,1	0,4	8,5	8,1
Кемеровская область	3	5,1	5,0	0,8	4,3	5,9	1,6
Калужская область	3	5,1	2,7	5,3	1,7	11,2	9,5
Краснодарский край	3	5,2	4,6	1,5	4,1	6,9	2,8

Сложный состав прополиса и воска (из более чем трехсот веществ) также является причиной различий в значениях величины $\delta^{13}\text{C}$ и вызывает сложности при интерпретации данных. В биологических объектах процесс фракционирования изотопов происходит как из-за кинетического и магнитного изотопных эффектов, так и при других биохимических процессах (например, при биосинтезе липидов и дыхании). Как результат, одно и то же органическое вещество может иметь разное распределение изотопов внутри молекулы в зависимости от путей биосинтеза и условий среды [156, 157].

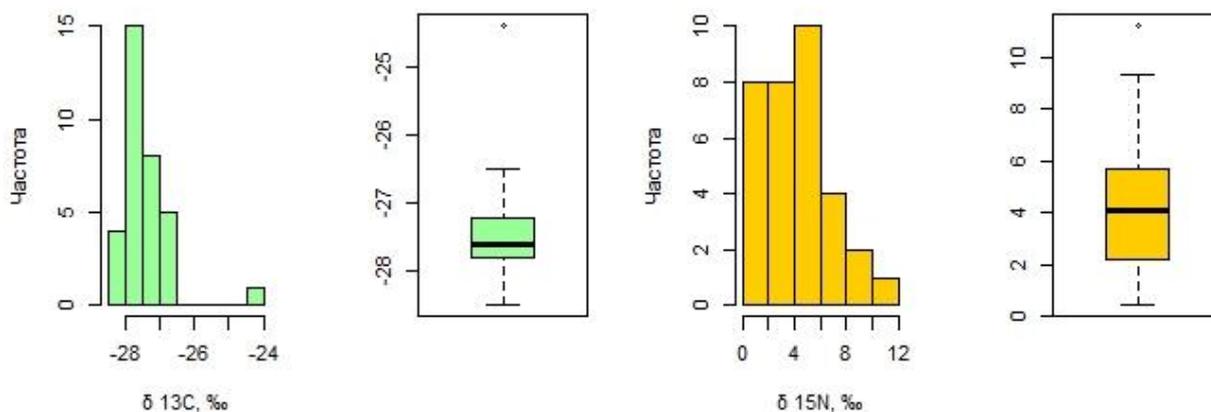


Рисунок 22 – Гистограммы распределения величин $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ прополиса и диаграммы размаха числовых значений тех же величины: диапазон между первым и третьим квартилем распределения заключен в рамку, вертикальные линии («усы») на нижнем и верхнем конце оси рамки представляют минимальные и максимальные значения, которые не считаются экстремальными значениями, вертикальная линия в рамке – медиана распределения; точками обозначены экстремальные значения

В работе [85] изучено распределение изотопов углерода между основными полимерами высших растений на примере структурных полимеров пшеницы: лигнин, гемицеллюлоза, целлюлоза, крахмал, белки, липиды. Наиболее изотопно тяжелыми оказались крахмал и гемицеллюлоза ($-25,9$ и $-26,2\text{‰}$ соответственно). Менее обогащены ^{13}C белки (до $-27,3\text{‰}$), липиды и лигнин ($-33,3$ и $-32,6\text{‰}$) относятся к изотопно легким компонентам биомассы. Гетерогенность изотопного состава (от $-33,3$ до $-25,9\text{‰}$) биополимеров определяет изотопную неоднородность органов и частей растения. Таким образом, изотопная неоднородность может встречаться не только на уровне отдельных молекул, но и на уровне целых классов органических соединений.

3.3 Изотопные характеристики подмора пчел

В таблице А3 приложения А представлены результаты анализа изотопного состава всех образцов подмора пчел. Величина $\delta^{13}\text{C}$ подмора пчел варьируется от $-28,1$ до $-25,1\text{‰}$ (таблица 13). Диапазон вариации величины $\delta^{13}\text{C}$ подмора пчел в целом сходен с опубликованными данными в литературе: величина $\delta^{13}\text{C}$ пчел во Франции лежит в диапазоне от $-27,2$ до $-21,7\text{‰}$ [17], а величина $\delta^{13}\text{C}$ пчел в Японии варьируется в пределах от $-27,35$ до $-23,96\text{‰}$ [18].

Таблица 13 – Основная описательная статистика изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) образцов подмора пчел по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
подмор пчел (все образцы)	36	-26,30	-26,20	0,60	-28,10	-25,10	3,0
Алтайский край	6	-26,20	-26,10	0,30	-26,60	-25,70	0,9
Томская область	17	-26,06	-26,00	0,45	-26,70	-25,10	1,8
Кемеровская область	3	-26,33	-26,20	0,20	-26,60	-26,20	0,4
Калужская область	3	-26,17	-26,30	0,30	-26,40	-25,80	0,6

На рисунке 23 представлены результаты анализа изотопного состава углерода тканей медоносных пчел (подмора пчел) нашего исследования в сравнении с исследованиями, проведенными другими авторами.

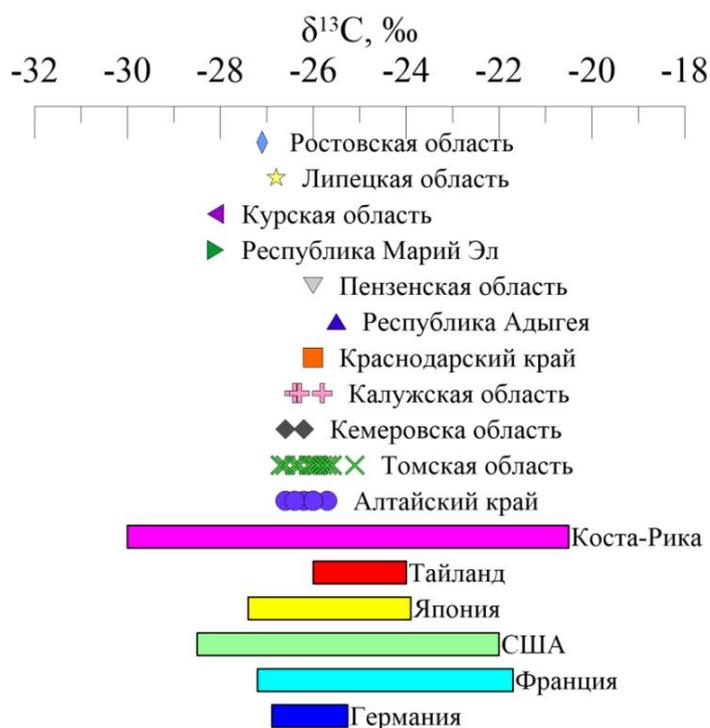


Рисунок 23 – Диапазоны величины $\delta^{13}\text{C}$ проанализированных образцов тканей медоносных пчел и других исследований [17, 18, 121, 138, 158–162]

Среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ подмора пчел для всех исследованных нами географических регионов России равно $-26,3 \pm 0,6\text{‰}$. Разброс значений $\delta^{13}\text{C}$ подмора пчел не велик по сравнению со значениями зарубежных исследователей, что можно объяснить однотипной кормовой базой. Несмотря на то, что в нашей стране насчитывается несколько сотен видов медоносных растений, практическое же значение для пчеловодства имеют

несколько десятков из них. Во многих районах Дальнего Востока, Сибири и Урала преобладает естественная кормовая база — дикорастущая медоносная флора. Гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины $\delta^{13}\text{C}$ показаны на рисунке 24.

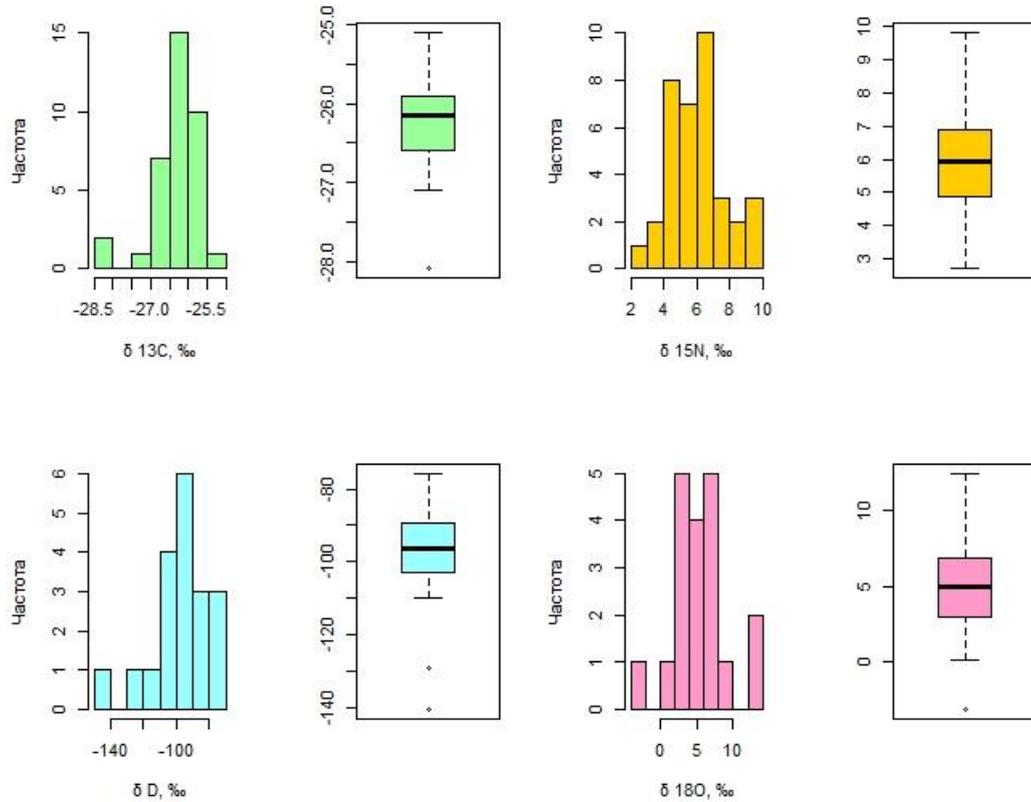


Рисунок 24 – Гистограммы распределения величин $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, δD , $\delta^{18}\text{O}$ образцов подмора пчел и диаграммы размаха числовых значений тех же величины: диапазон между первым и третьим квартилем распределения заключен в рамку, вертикальные линии («усы») на нижнем и верхнем конце оси рамки представляют минимальные и максимальные значения, которые не считаются экстремальными значениями, вертикальная линия в рамке – медиана распределения; точками обозначены экстремальные значения

Среднее значение величины изотопного состава азота образцов подмора пчел равно $+6,1 \pm 1,7\%$, диапазон вариации величины $\delta^{15}\text{N}$ проанализированных образцов составил от $+2,7$ до $+9,8\%$ (таблица 14). Данный диапазон вариации сходен с опубликованными данными в литературе (рисунок 25). Самый тяжелый изотопный состав азота ($+9,4 \pm 0,6\%$ и $+9,8 \pm 0,6\%$) обнаружен в образцах подмора пчел Томской области (Колпашевский и Асиновский районы), а также в образце из Курской области ($+9,5 \pm 0,6\%$).

Таблица 14 – Основная описательная статистика изотопного состава азота ($\delta^{15}\text{N}$, ‰) образцов подмора пчел по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
подмор пчел (все образцы)	36	6,1	6,0	1,7	2,7	9,8	7,1
Алтайский край	6	6,0	5,8	1,2	4,5	7,9	3,4
Томская область	17	6,4	6,2	1,5	4,7	9,8	5,1
Кемеровская область	3	5,3	5,3	1,3	4,1	6,6	2,5
Калужская область	3	5,1	5,2	1,5	3,6	6,5	2,9

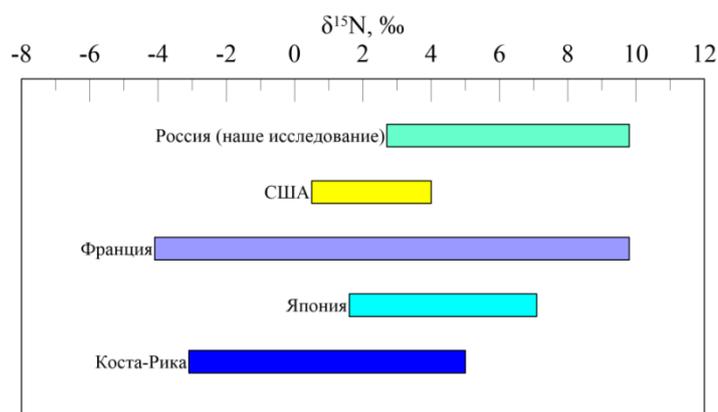


Рисунок 25 – Диапазоны величины $\delta^{15}\text{N}$ образцов подмора пчел нашего исследования и литературные данные [17–19, 160]

Значения величины $\delta^{15}\text{N}$ протеина этих образцов соответствуют среднему значению для протеина и не являются исключением, т.е. не сигнализируют о наличии азотсодержащих соединений с тяжелым изотопным составом. Гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины $\delta^{15}\text{N}$ показаны на рисунке 24. Среднее значение величины изотопного состава водорода образцов подмора пчел равно $-97,7 \pm 16,4\text{‰}$, диапазон вариации величины δD образцов составил от $-140,4$ до $-75,8\text{‰}$ (таблица 15). Самые низкие значения величины δD характерны образцам подмора пчел из Сибирских регионов, более высокие значения соответствуют образцам подмора пчел из черноморского региона и европейской части страны (Калужская и Курская области). На рисунке 24 показаны гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины δD .

Среднее значение величины изотопного состава кислорода образцов подмора пчел равно $+5,3 \pm 3,8\text{‰}$, диапазон вариации величины $\delta^{18}\text{O}$ проанализированных образцов составил от $-3,2$ до $+12,5\text{‰}$ (таблица 16). Самые низкие значения величины $\delta^{18}\text{O}$ характерны образцам подмора пчел из Томской области, высокие значения величины $\delta^{18}\text{O}$ соответствуют образцам подмора

пчел Алтайского края, а также образцам из европейской части страны. На рисунке 24 показаны гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины $\delta^{18}\text{O}$.

Таблица 15 – Основная описательная статистика изотопного состава водорода (δD , ‰) образцов подмора пчел по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
подмор пчел (все образцы)	19	-97,7	-96,3	16,4	-140,4	-75,8	64,6
Алтайский край	2	-111,7	-111,7	24,6	-129,1	-94,3	34,8
Томская область	6	-103,9	-102,8	4,3	-110,0	-99,3	10,7
Кемеровская область	2	-118,3	-118,3	31,2	-140,4	-96,3	44,1
Калужская область	2	-87,1	-87,1	3,8	-89,8	-84,4	5,4

Таблица 16 – Основная описательная статистика изотопного состава кислорода ($\delta^{18}\text{O}$, ‰) образцов подмора пчел по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
подмор пчел (все образцы)	19	5,3	5,0	3,8	-3,2	12,5	15,7
Алтайский край	2	12,45	12,45	0,07	12,40	12,50	0,10
Томская область	6	2,7	3,7	3,7	-3,2	7,0	10,2
Кемеровская область	2	4,9	4,9	2,5	3,1	6,6	3,5
Калужская область	2	6,25	6,25	1,80	5,00	7,50	2,50

Сравнение с литературными данными изотопного состава водорода длинноцепочных (C_{21} - C_{33}) n -алканов и n -алкенов насекомых Японии [163] показаны следующие вариации величины δD : для n -алканов величина δD варьируется от -238 до -171 ‰, а для n -алкенов от -257 до -191 ‰.

Если учесть, что подмор пчел в своем составе имеет углеводороды, белок, хитин, меланины, воск, витамины и другие вещества, т.е. иными словами представляет собой смесь, то наши данные по изотопному составу общего водорода и кислорода согласуются с литературными данными по хитину (для жуков из Северной Америки величина δD варьируется от -135 до -5 ‰, величина $\delta^{18}\text{O}$ – от $+6$ до $+33$ ‰).

3.4 Изотопные характеристики пыльцевой обножки

Пыльцевая обножка образуется при соединении цветочной пыльцы с нектаром и слюнными веществами пчел [164]. Основными компонентами пчелиной пыльцы являются

углеводы (от 13% до 55%), сырые волокна (от 0,3% до 20%), белки (от 10% до 40%) и липиды (от 1% до 10%) [164]. В таблице А4 приложения А представлены результаты анализа изотопного состава углерода, азота, водорода и кислорода всех образцов пыльцевой обножки.

Величина $\delta^{13}\text{C}$ пыльцевой обножки варьирует от $-31,2$ до $-24,3\text{‰}$. Среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ равно $-27,2 \pm 1,3\text{‰}$ (таблица 17). Гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины $\delta^{13}\text{C}$ показаны на рисунке 26.

Таблица 17 – Основная описательная статистика изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) образцов пыльцевой обножки по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	<i>n</i>	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
пыльцевая обножка (все образцы)	35	-27,2	-27,4	1,3	-31,2	-24,3	6,9
Алтайский край	6	-24,4	-27,4	1,3	-29,4	-25,5	3,9
Томская область	16	-27,3	-27,5	1,0	-28,8	-25,1	3,7
Кемеровская область	2	-26,6	-26,6	1,2	-27,4	-25,7	1,7
Калужская область	2	-27,3	-27,3	0,8	-27,9	-26,7	1,2
Краснодарский край	2	-29,2	-29,2	2,9	-31,2	-27,1	4,1

Максимальный разброс значения изотопного состава углерода зафиксирован именно в пыльцевой обножке: интервал величины $\delta^{13}\text{C}$ равен $6,9\text{‰}$ для всех регионов, для Томской области – $3,7\text{‰}$. Вариации значений величины $\delta^{13}\text{C}$ пыльцевой обножки обусловлены соотношениями $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в пыльце растений, географическим местом расположения, климатическими условиями и временем цветения растений. Минимальное значение величины $\delta^{13}\text{C}$, равное $-31,2\text{‰}$, зафиксировано для пыльцевой обножки, собранной во время цветения плюща. Плющ является превосходным медоносом и цветёт в сентябре-октябре в Туапсинском районе.

Изотопный состав пыльцы плюща показал значение величины $\delta^{13}\text{C}$, равное $-29,8\text{‰}$, что согласуется с литературными данными (от $-31,3$ до $-28,1\text{‰}$) [165] и результатом изотопного анализа углерода пыльцевой обножки. Максимальное значение величины изотопного состава углерода (величина $\delta^{13}\text{C}$ равна $-25,1\text{‰}$) обнаружено для пыльцевой обножки образца № 10 (Томская область, Томский район). Предположительно, утяжеленный изотопный состав углерода можно объяснить тем, что растения в данной области находятся в угнетенных условиях (близость города, автотранспорта, использование синтетических удобрений на полях), а при неблагоприятных условиях произрастания изотопный состав углерода растений утяжеляется.

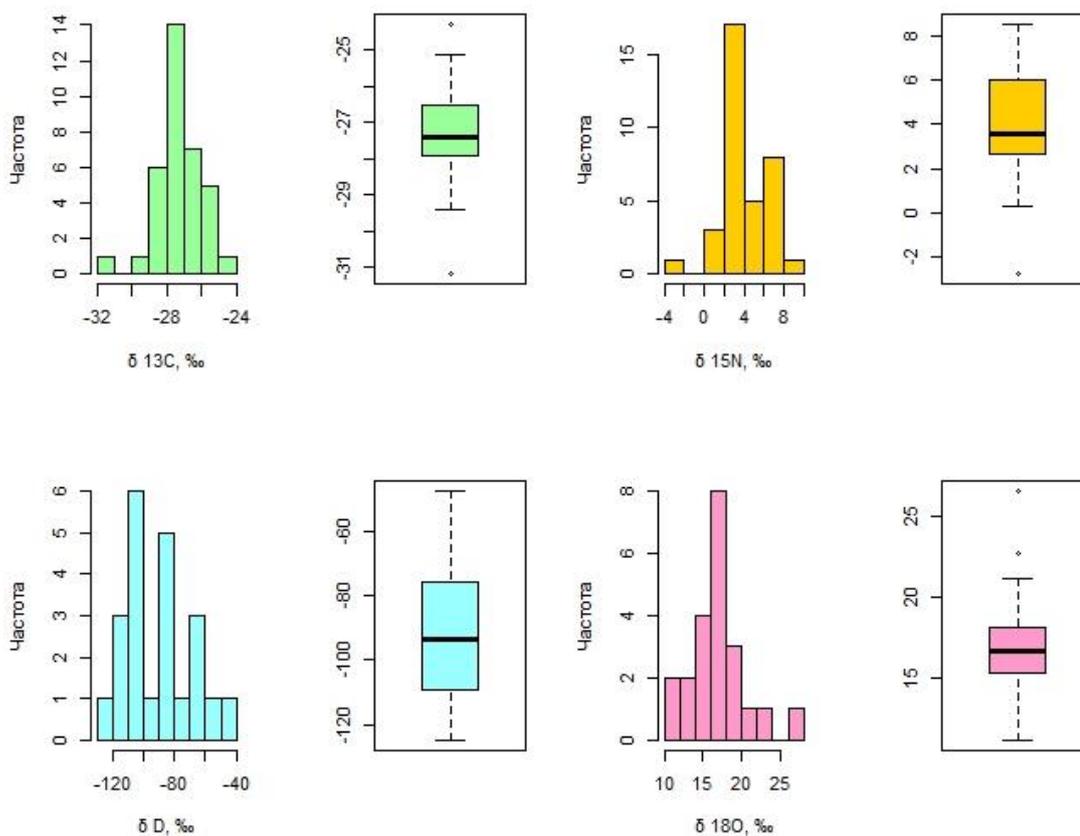


Рисунок 26 – Гистограммы распределения величин $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, δD , $\delta^{18}\text{O}$ образцов пыльцевой обножки и диаграммы размаха числовых значений тех же величины: диапазон между первым и третьим квартилем распределения заключен в рамку, вертикальные линии («усы») на нижнем и верхнем конце оси рамки представляют минимальные и максимальные значения, которые не считаются экстремальными значениями, вертикальная линия в рамке – медиана распределения; точками обозначены экстремальные значения

Наибольшие вариации изотопного состава азота характерны для образцов пыльцевой обножки (таблица 18). Это обусловлено множеством факторов, влияющих на величину $\delta^{15}\text{N}$ пыльцы и растения в целом (различный изотопный состав поглощаемых азотсодержащих соединений, фракционирование изотопов, происходящее в процессе поглощения и ассимиляции, микоризный статус растения [166], климатические особенности [167]. Согласно [29, 168] величина $\delta^{15}\text{N}$ C3 растений может варьироваться от -8 до $+7\text{‰}$. Диапазон вариации изотопного состава азота всех образцов пыльцевой обножки составил от $-2,8$ до $+8,5\text{‰}$, что согласуется с литературными данными по изотопному составу пыльцы [121, 129]. Гистограмма распределения величины $\delta^{15}\text{N}$ совместно с диаграммой размаха числовых значений величины $\delta^{15}\text{N}$ показаны на рисунке 26.

Таблица 18 – Основная описательная статистика изотопного состава азота ($\delta^{15}\text{N}$, ‰) образцов пыльцевой обножки по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
пыльцевая обножка (все образцы)	35	4,0	3,6	2,4	-2,8	8,5	11,3
Алтайский край	6	3,7	3,0	1,9	2,4	7,5	5,1
Томская область	16	4,3	3,9	2,1	0,3	7,2	6,9
Кемеровская область	2	3,1	3,1	0,7	2,6	3,6	1,0
Калужская область	2	2,7	2,7	0,8	2,1	3,2	1,1
Краснодарский край	2	0,7	0,7	4,9	-2,8	4,1	6,9

Изотопный состав азота пыльцевой обножки медоносных пчел отражает почвенные условия в районе, где пчелы обитали, и присутствие азотсодержащих соединений в почве. Например, в областях, которые подвержены высуханию, усиливается улетучивание аммиака (NH_3) из почвы, что, в свою очередь, увеличивает концентрацию изотопа ^{15}N , включенного в почву и растительную ткань [120, 169]. Аналогичная картина с обогащением изотопом ^{15}N почвы и растений наблюдается при внесении синтетических удобрений и навоза: газообразный аммиак (NH_3), образовавшийся после применения синтетической мочевины, улетучивается с потерей легкого изотопа ^{14}N .

Многие исследования [2, 170–172] продемонстрировали более высокие значения $\delta^{15}\text{N}$ для растений с почв, удобренных натуральными удобрениями, по сравнению с растениями с необработанных полей или обработанных азотными синтетическими удобрениями. В более жарких и сухих районах одни и те же группы растений имеют более высокое содержание ^{15}N , чем в более прохладных и влажных районах [167]. В работе [173] показано, что в широком диапазоне типов климата и экосистем значения величины $\delta^{15}\text{N}$ в почве и растениях систематически снижались с увеличением среднегодовых осадков и снижением среднегодовой температуры. Кроме того, отношения $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ пыльцевой обножки варьируются не только в зависимости от регионального происхождения, но и от сезона сбора урожая, так как в разные цветочные сезоны пчелы собирают пыльцу с разных медоносов. Значения величины $\delta^{15}\text{N}$ значительно различаются в зависимости и от вида растения. Примерами значений $\delta^{15}\text{N}$ являются: красный клевер $-0,27\text{‰}$ (*Trifolium pratense*), бобы $+0,31\text{‰}$ (*Vicia faba*), трава $+3,21\text{‰}$ (смесь), кукурузный силос $+4,24\text{‰}$ и рапс $+8,73\text{‰}$ (*Brassica napus*) [129]. В нашем исследовании примером является пыльца плюща, собранная пчелами в Туапсинском районе в сентябре – величина $\delta^{15}\text{N}$ равна $-2,75\text{‰}$.

Из данных, приведенных на двухэлементном графике соотношения изотопов углерода и азота для пыльцевой обножки медоносных пчел (рисунок 27) видно, что географических аспектов явно не проявляется в значениях изотопного состава азота в пыльцевой обножке исследуемых образцов. Также видно, что для пяти образцов из Томской области и одного образца из Алтайского края (обведено зеленым кругом) зафиксировано более высокое содержание изотопа ^{15}N при низкой величине изотопного состава углерода. На основании этого факта исключено предположение о влиянии локальных климатических факторов. В условиях нехватки воды и высоких температур улетучивание аммиака из почвы усиливается и концентрация ^{15}N в растительной ткани увеличивается, а фракционирование изотопов углерода угнетается, что приводит к обогащению изотопом ^{13}C в растительных продуктах. Этот эффект прослеживается в образце №24 из с. Подлесовка, Томского района (обведено красным кругом).

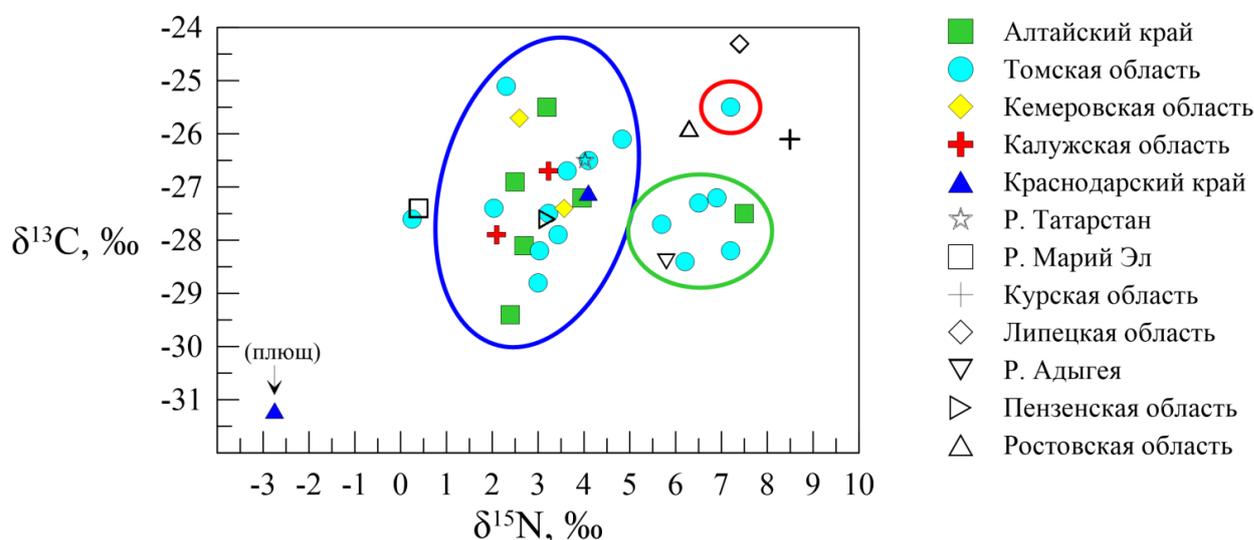


Рисунок 27 – Изотопный состав азота и углерода образцов пыльцевой обножки

Более высокое содержание ^{15}N в образцах также может быть связано либо с почвенными условиями и наличием азотсодержащих соединений в почве, либо с содержанием в кормовой базе пчел в основном растений-медоносов с высоким содержанием ^{15}N (например, рапс). Для подтверждения факта присутствия рапса в кормовой базе медоносных пчел проведен пыльцевой анализ. Мелиссопалинологический анализ выявил, что в двух образцах (№9 с. Зырянское, Зырянский район Томской области и №10 с. Новоархангельское, Томский район Томской области) преобладают пыльцевые зерна рапса (рисунок 28). В остальных образцах не обнаружены пыльцевые зерна рапса, значит, обогащение тяжелым изотопом ^{15}N может быть связано с почвенными условиями и наличием азотсодержащих соединений в почве.

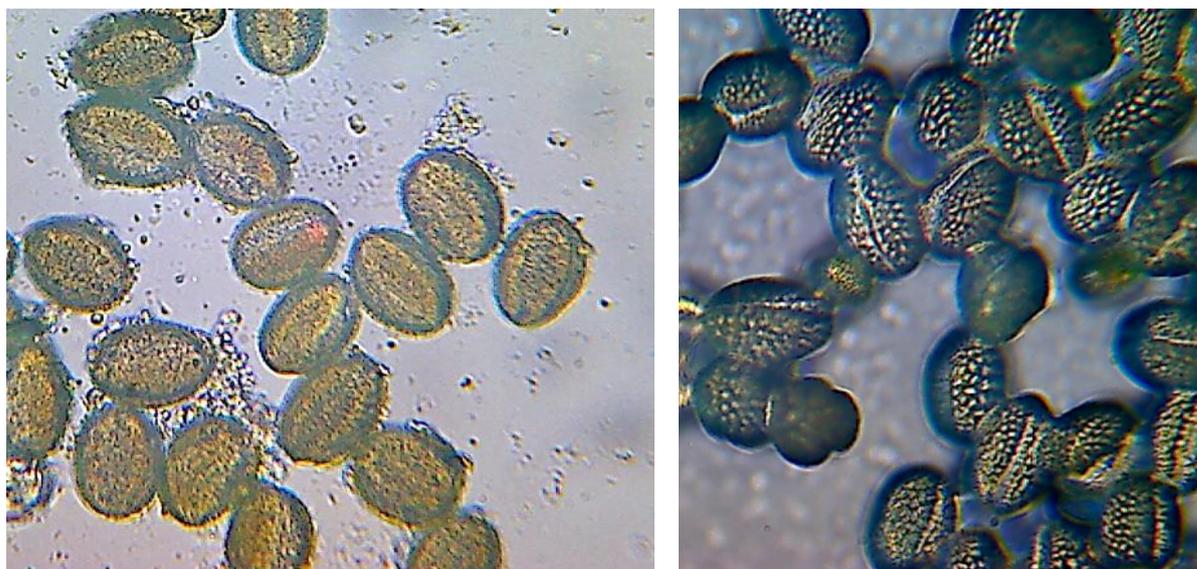


Рисунок 28 – Фотографии пыльцевых зерен рапса, содержащихся в пыльцевой обножке медоносных пчел: слева образец пыльцевой обножки №9 из Зырянского района Томской области, справа образец пыльцевой обножки №10 из Томского района Томской области

Среднее значение величины изотопного состава водорода образцов пыльцевой обножки равно $-91,0 \pm 21,6\%$, диапазон вариации величины δD проанализированных образцов составил от $-124,9$ до $-47,2\%$ (таблица 19). Самые низкие значения величины δD характерны образцам подмора пчел из Томской области, самые высокие значения величины δD соответствуют образцам пыльцевой обножки из черноморского региона и европейской части страны (Курская и Липецкая области). Гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины δD показаны на рисунке 26.

Таблица 19 – Основная описательная статистика изотопного состава водорода (δD , ‰) образцов пыльцевой обножки по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
пыльцевая обножка (все образцы)	22	-91,0	-93,2	21,6	-124,9	-47,2	77,7
Алтайский край	3	-86,9	-82,4	20,5	-109,3	-69,0	40,3
Томская область	8	-105,7	-108,9	14,9	-124,9	-82,9	42,0
Кемеровская область	2	-89,2	-89,2	31,0	-111,1	-67,3	43,8

Среднее значение величины изотопного состава кислорода образцов пыльцевой обножки равно $+17,0 \pm 3,4\%$, диапазон вариации величины $\delta^{18}O$ проанализированных образцов составил от $+11,1$ до $+26,6\%$ (таблица 20). На рисунке 26 изображены гистограмма распределения и диаграмма размаха числовых значений величины $\delta^{18}O$.

Таблица 20 – Основная описательная статистика изотопного состава кислорода ($\delta^{18}\text{O}$, ‰) образцов пыльцевой обножки по регионам для тех случаев, когда $n > 1$

Объект исследования	n	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
пыльцевая обножка (все образцы)	22	17,0	16,6	3,4	11,1	26,6	15,5
Алтайский край	3	17,3	18,9	4,7	12,0	21,1	9,1
Томская область	8	16,4	16,4	0,8	15,3	18,0	2,7
Кемеровская область	2	17,7	17,7	2,3	16,1	19,3	3,2

3.5 Изотопные характеристики растений-медоносов

При исследовании изотопного состава углерода меда важно знать значения изотопного состава углерода растений-медоносов, произрастающих на исследуемой территории. Растения с разным типом фотосинтеза имеют не перекрывающиеся диапазоны величины $\delta^{13}\text{C}$. Как показано в разделе 1.4.1, для растений с C4 типом фотосинтеза величина $\delta^{13}\text{C}$ варьируется от -10 до -18‰ , более легкий изотопный состав у растений с C3 типом фотосинтеза — от $-25,5$ до $-32,0\text{‰}$ [174]. Проводя исследование изотопного состава медоносных растений Томского района, мы разбили их на группы по времени цветения и по месту произрастания (рисунок 29). Результаты анализа изотопного состава углерода медоносных растений представлены в таблице 21.

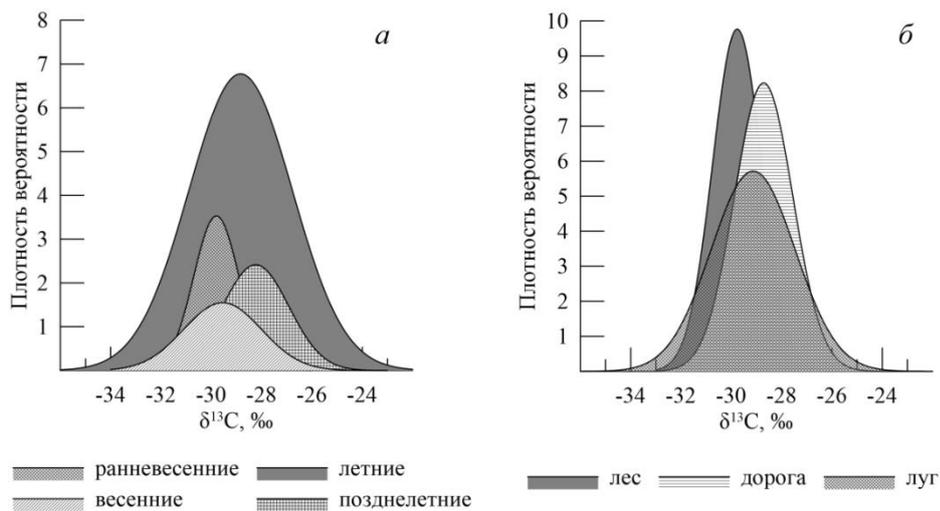


Рисунок 29 – Кривые нормального распределения Гаусса значений величины $\delta^{13}\text{C}$ образцов растений Томского района

Таблица 21 – Изотопный состав углерода медоносных растений Томского района

Вид растений	$\delta^{13}\text{C}$, ‰
Ранневесенние	
Мать-и-мачеха (<i>Tussilago farfara</i> L.)	-28,1±0,1
Кандык сибирский (<i>Erythronium sibiricum</i>)	-29,7±0,2
Медуница мягкая (<i>Pulmonaria molliss</i>)	-30,2±0,1
Хохлатка крупноприцветниковая (<i>Corydalis bracteata</i>)	-29,4±0,1
Первоцвет крупночашечный (<i>Primula macrocalyx</i>)	-29,2±0,2
Фиалка опушенная (<i>Viola hirta</i>)	-31,4±0,2
Весенник звездчатый (<i>Eranthis stellata</i>)	-30,0±0,1
Ива козья (<i>Salix caprea</i>)	-30,4±0,2
Среднее значение: -29,8±0,9	
Весенние	
Берёза повислая (<i>Betula pendula</i>)	-30,7±0,1
Черемуха обыкновенная (<i>Prunus padus</i>) (2021 год)	-29,6±0,1
Одуванчик обыкновенный (<i>Taraxacum officinale</i>)	-28,6±0,1
Рябина сибирская (<i>Sorbus sibirica</i>)	-31,4±0,2
Земляника зеленая (<i>Fragaria viridis</i>)	-26,7±0,1
Черемуха обыкновенная (<i>Prunus padus</i>) (2020 год)	-30,3±0,2
Среднее значение: -29,6±1,7	
Летние	
Крапива глухая (<i>Lamium album</i>)	-27,4±0,2
Рапс (<i>Brassica napus</i>)	-28,8±0,1
Девясил иволистный (<i>Inula salicina</i>)	-26,9±0,2
Борщевик сибирский (<i>Heracleum sibiricum</i>)	-30,7±0,1
Василёк синий (<i>Centaurea cyanus</i>)	-30,7±0,2
Кипрей узколистный (<i>Chamaenerion angustifolium</i>)	-30,3±0,2
Пустырник обыкновенный (<i>Leonorus cardiaca</i>)	-27,1±0,2
Огуречная трава (<i>Borago officinalis</i>)	-33,2±0,2
Фацелия пижмолистная (<i>Phacelia tanacetifolia</i>)	-30,8±0,1
Кабачок (<i>Cucurbita pepo</i>)	-27,9±0,2
Лук-батун (<i>Allium fistulosum</i>)	-27,2±0,1
Огурцы (<i>Cucumis sativus</i>)	-27,6±0,1
Малина обыкновенная (<i>Rubus idaeus</i>)	-26,5±0,1
Синяк обыкновенный (<i>Echium vulgare</i>)	-29,3±0,2

Продолжение таблицы 21

Донник лекарственный (желтый и белый) (<i>Melilotus officinalis</i>)	-28,5±0,1
Чистец болотный (<i>Stachys palustris</i>)	-27,1±0,1
Душица обыкновенная (<i>Origanum vulgare</i>)	-27,3±0,2
Герань луговая (<i>Geranium pratense</i>)	-24,8±0,2
Горошек мышиный (<i>Vicia cracca</i>)	-27,8±0,2
Клевер красный (<i>Trifolium pratense</i>)	-27,0±0,1
Клевер белый (<i>Trifolium repens</i>)	-29,8±0,1
Сныть обыкновенная (<i>Aegopodium podagraria</i>)	-30,4±0,2
Таволга вязолистная (<i>Filipendula ulmaria</i>)	-29,5±0,1
Зверобой (<i>Hypericum</i>)	-30,3±0,2
Бодяк разнолистный (<i>Cirsium heterophyllum</i>)	-26,1±0,1
Чистотел большой (<i>Chelidonium majus</i>)	-30,4±0,2
Мята колосистая (<i>Mentha spicata</i>)	-31,1±0,1
Пастернак лесной (<i>Pastinaca sylvestris</i>)	-26,7±0,2
Шиповник повислый (<i>Rosa pendulina</i>)	-28,0±0,2
Чина луговая (<i>Lathyrus pratensis</i>)	-28,5±0,2
Горчица полевая (<i>Sinapis arvensis</i>)	-30,1±0,1
Гречиха обыкновенная (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	-26,2±0,2
Короставник полевой (<i>Knautia arvensis</i>)	-30,6±0,1
Молочай острый (<i>Euphorbia esula</i>)	-34,4±0,1
Подорожник большой (<i>Plantago major</i>)	-30,2±0,2
Среднее значение: -28,8±2,0	
Позднелетние	
Подсолнечник однолетний (<i>Helianthus annuus</i>)	-28,1±0,2
Цикорий обыкновенный (<i>Cichorium intybus</i>)	-28,5±0,1
Лопух войлочный (<i>Arctium tomentosum</i>)	-27,4±0,1
Льнянка обыкновенная (<i>Linaria vulgaris</i>)	-30,1±0,2
Тысячелистник обыкновенный (<i>Achillea millefolium</i>)	-27,8±0,1
Топинамбур (<i>Helianthus tuberosus</i>)	-30,4±0,2
Осот полевой (<i>Sonchus arvensis</i>)	-27,4±0,2
Золотарник обыкновенный (<i>Solidago virgaurea</i>)	-26,2±0,2
Среднее значение: -28,2±1,3	

Среднее значение изотопного состава углерода медоносных растений Томского района составило $-29,0 \pm 1,9\%$. Анализ изотопного состава углерода медоносных растений показал, что наиболее легкий изотопный состав у ранневесенних медоносных растений (величина $\delta^{13}\text{C}$ составила $-29,8 \pm 0,9\%$), наиболее тяжелый — у позднелетних медоносов (величина $\delta^{13}\text{C}$ равна $-28,2 \pm 1,3\%$).

Растения одного и того же вида, произрастающие в различных климатических условиях имеют разные значения величины $\delta^{13}\text{C}$ [175]. Установлена связь изотопного состава растений, произрастающих в одних и тех же климатических условиях, но в местах с разными абиотическими факторами (таблица 22).

Таблица 22 – Результаты анализа изотопного состава углерода в одинаковых растениях, произраставших в разных условиях (‰)

№	Название растения	$\delta^{13}\text{C}$		
		лес	луг	дорога
1	<i>Urtica dioica</i> (Крапива двудомная)	$-30,9 \pm 0,1$	$-27,5 \pm 0,1$	$-27,0 \pm 0,2$
2	<i>Trifolium pratense</i> (Клевер луговой)	$-30,8 \pm 0,1$	$-27,6 \pm 0,1$	$-26,6 \pm 0,1$
3	<i>Chamaenerion angustifolium</i> (Кипрей узколистный)	$-27,9 \pm 0,1$	$-27,0 \pm 0,2$	$-27,6 \pm 0,2$
4	<i>Prunus padus</i> (Черемуха обыкновенная)	$-28,6 \pm 0,2$	$-29,4 \pm 0,1$	$-29,5 \pm 0,1$
5	<i>Aegopodium podagraria</i> (Сныть обыкновенная)	$-28,8 \pm 0,2$	$-28,2 \pm 0,1$	$-27,7 \pm 0,2$
6	<i>Heraclеum sibiricum</i> (Борщевик сибирский)	$-29,9 \pm 0,1$	$-30,1 \pm 0,2$	$-28,5 \pm 0,2$
7	<i>Carex paniculata</i> (Осока метельчатая)	$-28,2 \pm 0,1$	$-26,6 \pm 0,1$	$-30,2 \pm 0,2$
8	<i>Populus tremula</i> (Осина обыкновенная)	$-31,4 \pm 0,2$	$-28,4 \pm 0,2$	$-29,9 \pm 0,1$
9	<i>Betula pendula</i> (Береза повислая)	$-30,3 \pm 0,1$	$-28,0 \pm 0,1$	$-29,3 \pm 0,1$
10	<i>Filipendula ulmaria</i> (Лабазник вязолистный)	$-29,0 \pm 0,2$	$-29,0 \pm 0,1$	$-28,0 \pm 0,1$
11	<i>Taraxacum officinale</i> (Одуванчик обыкновенный)	$-29,5 \pm 0,2$	$-32,4 \pm 0,2$	$-30,3 \pm 0,2$
12	<i>Plantago major</i> (Подорожник большой)	$-29,9 \pm 0,2$	$-33,0 \pm 0,2$	$-29,3 \pm 0,2$
13	<i>Leucanthemum vulgare</i> (Поповник)	$-29,5 \pm 0,1$	$-29,0 \pm 0,2$	$-31,0 \pm 0,2$
14	<i>Rosa majalis</i> (Шиповник майский)	$-29,7 \pm 0,1$	$-27,3 \pm 0,2$	$-30,0 \pm 0,2$
15	<i>Achillea millefolium</i> (Тысячелистник обыкновенный)	$-29,3 \pm 0,2$	$-28,8 \pm 0,1$	$-28,0 \pm 0,2$
16	<i>Artemisia absinthium</i> (Полынь горькая)	$-29,7 \pm 0,2$	$-28,2 \pm 0,1$	$-28,5 \pm 0,1$
17	<i>Tanacetum vulgare</i> (Пижма обыкновенная)	$-29,7 \pm 0,1$	$-29,5 \pm 0,1$	$-28,2 \pm 0,2$

Продолжение таблицы 22

18	<i>Equisetum arvense</i> (Хвощ полевой)	-28,6±0,1	-29,8±0,2	-27,4±0,2
19	<i>Pinus sylvestris</i> (Сосна обыкновенная)	-30,2±0,2	-27,5±0,1	-28,4±0,1
20	<i>Pinus sibirica</i> (Сосна сибирская)	-30,2±0,1	-32,2±0,2	-28,4±0,2
21	<i>Tussilago farfara</i> (Мать-и-мачеха)	-32,2±0,1	-30,6±0,1	-27,0±0,1
22	<i>Arctium lappa</i> (Репей)	-30,1±0,1	-28,9±0,1	-29,4±0,1
23	<i>Sorbus sibirica</i> (Рябина сибирская)	-30,6±0,2	-30,9±0,2	-29,9±0,2
24	<i>Picea abies</i> (Ель обыкновенная)	-29,4±0,1	-29,3±0,1	-29,2±0,1

Стабильные отношения изотопов углерода показали различный диапазон: для лесной зоны величина $\delta^{13}\text{C}$ изменялась в диапазоне от $-32,5$ до $-27,8\text{‰}$, а для растений на открытом лугу — в диапазоне от $-31,0$ до $-26,5\text{‰}$ (рисунок 29, б). Среднее значение изотопного состава углерода ($-29,8\pm 1,0\text{‰}$) для растений лесной зоны на 1‰ легче, чем для растений, произрастающих на открытой местности ($-29,1\pm 1,7\text{‰}$). Разница значений величины $\delta^{13}\text{C}$ объясняется особенностями фотосинтеза растений в условиях затенения (лесной полог) и фиксацией обедненной тяжелым изотопом углерода (^{13}C) CO_2 , выделяемой почвой и лесной подстилкой. Этот эффект — эффект локального месторасположения необходимо учитывать при интерпретации изотопных данных. Средняя величина изотопного состава растений, произраставших вблизи дороги, составила $-28,7\pm 1,2\text{‰}$. Утяжеление изотопного состава углерода растений, растущих в неблагоприятных условиях (в данном случае наличие выхлопов автотранспорта, дорожная пыль и т.д.), объясняется обогащением изотопом ^{13}C , как за счет угнетения фотосинтеза, так и за счет усиления дыхания [176].

3.6 Изотопные характеристики меда

3.6.1 Мед

В таблице А5 приложения А представлены результаты анализа изотопного состава углерода, водорода и кислорода всех образцов меда, а также значения величины $\delta^{15}\text{N}$ белковой фракции меда. В таблице 23 представлена основная описательная статистика всех изотопных составов образцов меда. Диапазон вариации величины $\delta^{13}\text{C}$ всех проанализированных образцов меда — от $-29,5$ до $-22,3\text{‰}$. Среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ равно $-26,8\pm 1,2\text{‰}$. Диапазон значений величины δD во всех образцах меда колеблется от $-126,2\text{‰}$ до $+4,2\text{‰}$. Среднее

значение величины δD равно $-70,8 \pm 26,7\%$. Измеренные значения величины $\delta^{18}O$ варьировались от $+12,7$ до $+26,0\%$. Среднее значение величины $\delta^{18}O$ равно $+20,3 \pm 3,4\%$. Более подробный анализ распределения изотопов водорода и кислорода в образцах меда будет рассмотрен в разделе 3.7.2.2. На рисунке 30 показаны гистограммы распределения и диаграммы размаха числовых значений величин $\delta^{13}C$, δD , $\delta^{18}O$ меда и величины $\delta^{15}N$ белковой фракции меда.

Таблица 23 – Основная описательная статистика изотопного состава углерода, водорода, кислорода образцов меда и изотопного состава азота белковой фракции меда (‰)

Величина	<i>n</i>	среднее	медиана	СКО	мин.	макс.	интервал
$\delta^{13}C$	117	-26,8	-26,9	1,2	-29,5	-22,3	7,2
δD	74	-70,8	-71,6	26,7	-126,2	4,2	130,4
$\delta^{18}O$	60	20,3	20,2	3,4	12,7	26,0	13,3
$\delta^{15}N$	97	4,5	4,5	1,8	-1,0	12,0	13,0

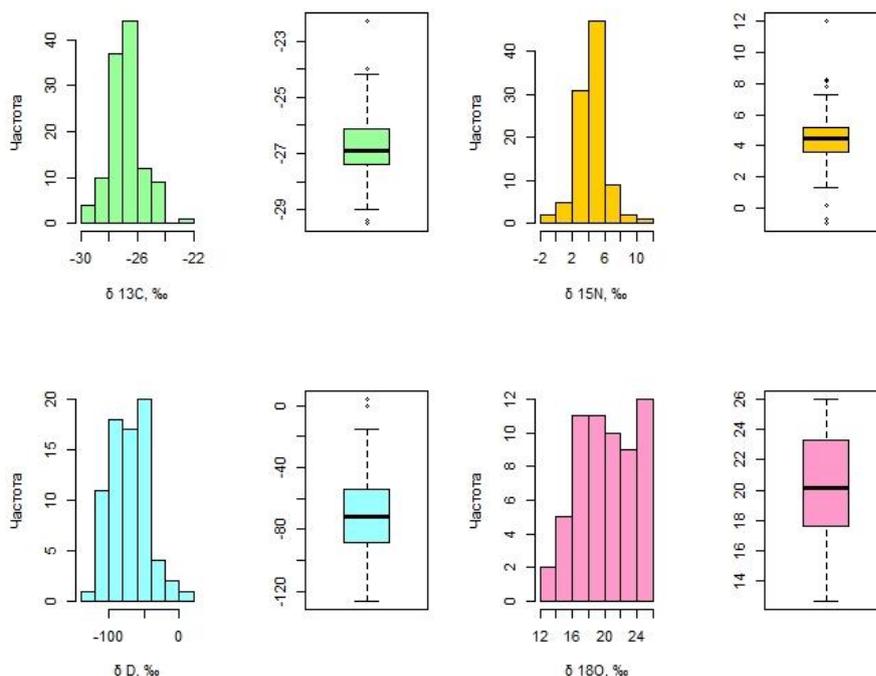


Рисунок 30 – Гистограммы распределения величин $\delta^{13}C$, δD , $\delta^{18}O$ меда и $\delta^{15}N$ белковой фракции меда, а также диаграммы размаха числовых значений тех же величины: диапазон между первым и третьим квартилем распределения заключен в рамку, вертикальные линии («усы») на нижнем и верхнем конце оси рамки представляют минимальные и максимальные значения, которые не считаются экстремальными значениями, вертикальная линия в рамке – медиана распределения; точками обозначены экстремальные значения

3.6.2 Белковая фракция меда

Существует относительно мало исследований, посвященных анализу белка в меде, потому что белки встречаются в небольших количествах, что затрудняет его извлечение [177], и потому что количество белка зависит от вида медоносных пчел [178]. В исследовании [179] для 13 чешских аутентичных медов составлены протеиновые профили, которые позволили идентифицировать 71 белок, таксономически отнесенных к медоносной пчеле. К белкам меда также относятся ферменты: инвертаза, которая превращает сахарозу в глюкозу и фруктозу; амилаза, расщепляющая крахмал на более мелкие части; глюкозооксидаза, которая превращает глюкозу в глюконолактон, который, в свою очередь, дает глюконовую кислоту и перекись водорода; каталаза, расщепляющая пероксид, образованный глюкозооксидазой, на воду и кислород; и кислая фосфорилаза, которая удаляет неорганический фосфат из органических фосфатов. Мед также содержит 26 аминокислот [177], а именно из связанных пептидной связью аминокислот состоит белок. Пролин является преобладающей аминокислотой в цветочном меде, за которой следуют фенилаланин и глутаминовая кислота [180, 181]. Несмотря на незначительные количества белка в меде, знание о белках меда важно с нескольких точек зрения, в частности, с точки зрения высокого потенциала использования меда в фармакологии [182–186] и использования белков для аутентификации меда [187].

Исследований изотопного состава азота в образцах меда мало [2]. Изотопы азота подвержены воздействию многих факторов: почвенные условия местности, пути биосинтеза, среда обитания, удобрения. В работе [7] показано, что на изотопный состав азота в меде влияет использование удобрений на полях, на которых росли медоносы. Также показано, что различные типы почв в разных частях Бразилии приводят к различиям значений $\delta^{15}\text{N}$ протеина меда между регионами Бразилии [8]. Известно, что мед содержит коллоидный материал, обогащенный азотом небелкового происхождения [2]. Также следует учитывать влияние ботанического происхождения (например, наличие пыльцы в меде). Следовательно, можно предположить, что устранение этих двух дополнительных источников азота может помочь в получении более точных данных, которые лучше отражают истинные значения величины $\delta^{15}\text{N}$ в белковой фракции меда.

Так как процентное содержание азота в меде очень мало, о величине $\delta^{15}\text{N}$ для меда можно судить по величине $\delta^{15}\text{N}$ его белковой фракции (протеине). В таблице 23 приведена основная описательная статистика величины $\delta^{15}\text{N}$ экстрагированной белковой фракции. Величина $\delta^{15}\text{N}$ образцов белковой фракции меда изменяется в широком диапазоне от $-1,0$ до $+12,0\%$. Среднее значение величины $\delta^{15}\text{N}$ всех образцов ($n=97$) равно $+4,5\%$. Диапазон вариации величины $\delta^{15}\text{N}$ для каждого региона тоже достаточно широк (рисунок 31).

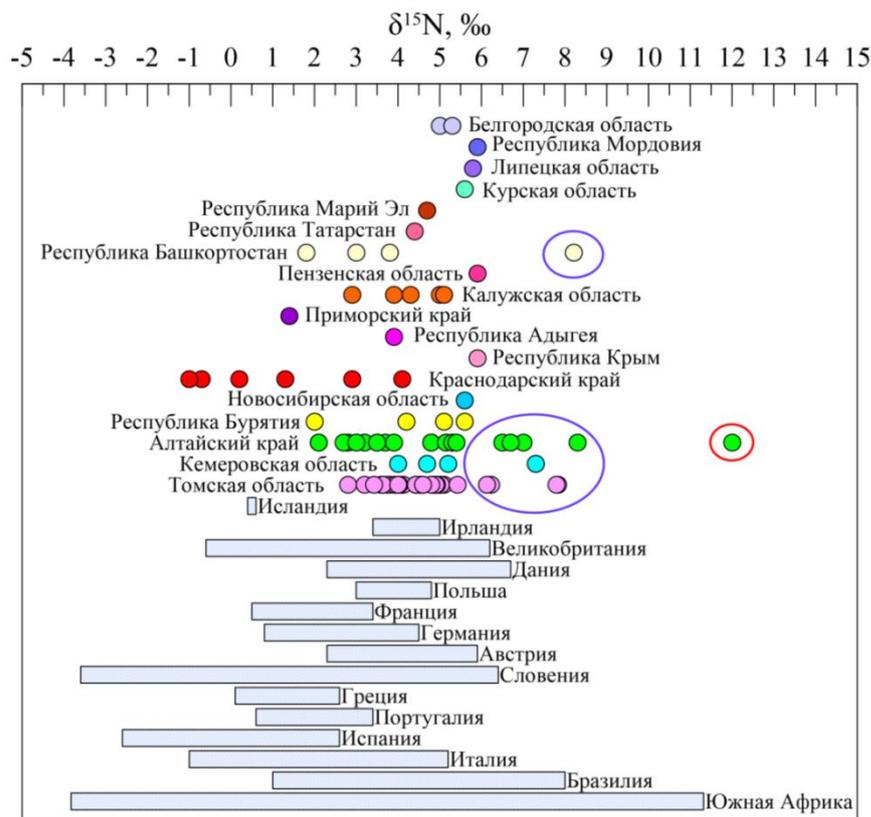


Рисунок 31 – Диапазоны величины $\delta^{15}\text{N}$ образцов белковой фракции меда в рамках нашего исследования и из литературных данных [1, 2, 6, 8, 9]

В целом, изотопный состав азота белковой фракции меда отражает почвенные условия района медосбора, поэтому можно ожидать, что значения величины $\delta^{15}\text{N}$ также будут отражать ботаническое происхождение. Некоторые растения, например, клевер, эспарцет (семейство бобовые), которые являются важными источниками монофлерных медов, симбиотически выделяют азот из воздуха. Следовательно, значения величины $\delta^{15}\text{N}$ таких растений может быть около 0‰ [129].

Диапазон вариации значений величины $\delta^{15}\text{N}$ протеина исследованных образцов согласуется со значениями величины $\delta^{15}\text{N}$ протеина образцов бразильского меда (+1...+8‰) [8], итальянского (-1...+5,2‰) [1], словенского (-3,6...+6,4‰) [2] и африканского (-3,83...+11,32‰) медов [6]. Самое высокое значение величины $\delta^{15}\text{N}$ белковой фракции меда определено для образца №51 из Алтайского края (таблица А5 приложения А) – на рисунке 31 обведено красным кругом. Данный образец приобретен в медовой лавке в Москве. Как показал дальнейший сравнительный анализ изотопного состава углерода меда и белковой фракции, этот образец оказался фальсифицированным, возможно именно поэтому данный образец показал самое высокое значение величины $\delta^{15}\text{N}$. Самые низкие значения величины $\delta^{15}\text{N}$ найдены для образцов белковой фракции меда из Краснодарского края. Величина $\delta^{15}\text{N}$, равная -0,7‰,

определена для образца меда из плюща из Туапсинского района. Величина $\delta^{15}\text{N}$, равная +0,2‰, определена для образца белковой фракции майского меда из села Кабардинка (муниципального образования «город-курорт Геленджик» Краснодарского края), а значение величины $\delta^{15}\text{N}$, равное -1,0‰, соответствует образцу белковой фракции горного меда из села Кабардинка. Наибольшие значения величины $\delta^{15}\text{N}$ – на рисунке 31 обведены синим кругом – определены для образцов № 21, 44, 47, 48 из Алтайского края, образцов № 54, 56, 58, 70 из Томской области, №36, 81 из Кемеровской области, №96 из Республики Башкортостан (таблица А5 приложения А). Возможно, пасеки, с которых собраны эти образцы, располагались вблизи лугов, обработанных удобрениями животного происхождения (навоз), изотопный состав азота которых имеет высокое содержание ^{15}N и варьируется в пределах от +5 до +37‰ [99, 169].

3.7 Анализ взаимосвязей

В таблице 24 собрана основная описательная статистика для всех изотопных составов по всем продуктам пчеловодства, также на рисунке 32 отображены диаграммы размаха числовых значений тех же величин.

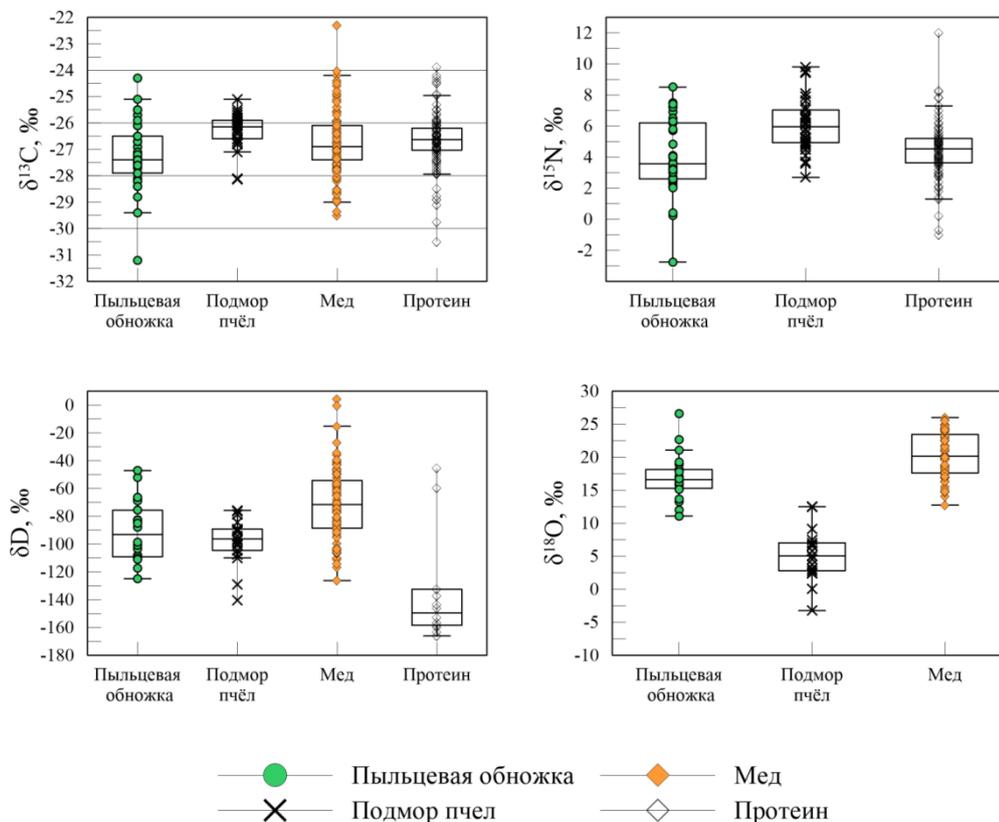


Рисунок 32 – Диапазоны вариаций значений величин $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, δD и $\delta^{18}\text{O}$ всех собранных образцов пыльцевой обножки, подмора пчел, меда и протеина, выделенного из меда

Таблица 24 – Основная описательная статистика величин $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, δD и $\delta^{18}\text{O}$ всех собранных образцов (‰)

Объект исследования	<i>n</i>	среднее	СКО	мин.	макс.	интервал
$\delta^{13}\text{C}$						
Мед	117	-26,8	1,2	-29,5	-22,3	7,2
Пыльцевая обножка	35	-27,2	1,3	-31,2	-24,3	6,9
Подмор пчел	36	-26,3	0,6	-28,1	-25,1	3,0
Воск	33	-28,6	0,6	-30,3	-27,4	2,9
Прополис	33	-27,4	0,7	-28,5	-24,4	4,1
$\delta^{15}\text{N}$						
Мед	97	4,5	1,8	-1,0	12,0	13,0
Пыльцевая обножка	35	4,0	2,4	-2,8	8,5	11,3
Подмор пчел	36	6,1	1,7	2,7	9,8	7,1
Прополис	33	4,2	2,6	0,4	11,2	10,8
δD						
Мед	74	-70,8	26,7	-126,2	4,2	130,4
Пыльцевая обножка	22	-91,0	21,6	-124,9	-47,2	77,7
Подмор пчел	19	-97,7	16,4	-140,4	-75,8	64,6
Воск	21	-282,0	24,2	-308,6	-202,3	106,3
$\delta^{18}\text{O}$						
Мед	60	20,3	3,4	12,7	26,0	13,3
Пыльцевая обножка	22	17,0	3,4	11,1	26,6	15,5
Подмор пчел	19	5,3	3,8	-3,2	12,5	15,7
Воск	17	-47,5	13,2	-70,8	-24,0	46,8

3.7.1 Эффект лесного полога

Известно, что пасеки №№ 1, 4, 7, 20, 41, 45, 52 расположены на лугах (открытые пространства), пасеки №№ 9, 10, 12, 14, 15, 17, 24, 39, 43, 46 расположены в лесах (закрытые, затененные пространства), а пасеки №№ 13, 18, 34, 55 располагаются на смешенной территории, где есть и лес, и луг (таблица 25). В таблице 25 приведены значения величины $\delta^{13}\text{C}$ образцов меда и пыльцевой обножки, а также указана информация по расположению пасек.

Таблица 25 – Величина $\delta^{13}\text{C}$ образцов меда и пыльцевой обножки, расположение пасеки (жирным выделены предполагаемые места расположения пасек) (%)

№	Место отбора	Место приобретения	Пыльцевая обножка	Мед	Расположение
2019 год					
Алтайский край					
1	Красногорский район	Частная пасека	-28,1±0,1	-29,0±0,1	луг
2	Краснощековский район	Медовый магазин	-25,5±0,2	-26,5±0,2	луг
3	Бийский район	Частная пасека	-29,4±0,2	—	—
4	Бийский район	Частная пасека	-26,9±0,1	—	—
Томская область					
5	Шегарский район	Ярмарка	-26,5±0,2	-27,3±0,2	луг
6	Асиновский район	Ярмарка	-25,1±0,2	-27,3±0,1	лес
7	Томский район	Ярмарка	-27,2±0,1	-26,8±0,2	лес
8	Томский район	Ярмарка	-28,4±0,2	-26,0±0,1	лес
9	Зырянский район		-27,7±0,2	-26,8±0,2	луг/лес
10	Томский район	Ярмарка	-28,8±0,1	-25,9±0,2	лес
11	Томский район	Ярмарка	-28,2±0,2	—	лес
12	Шегарский район	Ярмарка	-27,3±0,2	-26,3±0,2	лес
Кемеровская область					
13	Прокопьевский район	Частная пасека	-25,7±0,2	-26,7±0,2	луг
Калужская область					
14	Малоярославецкий район		-27,9±0,1	-27,8±0,2	—
Краснодарский край					
15	Туапсе		-27,1±0,1	-24,4±0,2	лес
16			-31,2±0,2	-26,1±0,2	—
2020 год					
Алтайский край					
17	Поспелихинский район	Медовый магазин	-28,4±0,1	-26,4±0,2	лес
18			-26,7±0,1	-26,3±0,2	лес
19	Солонешенский район	Ярмарка	-27,2±0,2	-26,6±0,2	лес
Томская область					
20	Шегарский район	Ярмарка	-27,5±0,2	-27,8±0,2	луг
21	Асиновский район	Ярмарка	-28,2±0,2	-27,6±0,2	луг/лес
22	Томский район	Ярмарка	-27,9±0,1	-27,3±0,2	лес

Продолжение таблицы 25

23	Томский район	Ярмарка	-27,4±0,1	-26,8±0,2	лес
24	Шегарский район	Ярмарка	-26,7±0,2	-27,3±0,2	луг
25	Томский район		-25,5±0,2	-26,3±0,2	луг
26	Зырянский район	Ярмарка	-27,6±0,2	-26,9±0,2	лес
27	Зырянский район	Ярмарка	-26,1±0,1	-27,1±0,2	луг
	Кемеровская область				
28	Киселевский городской округ	Медовый магазин	-27,4±0,2	-25,4±0,2	лес
	Калужская область				
29	Мещевский район		-26,7±0,1	-27,3±0,2	луг
	Республика Татарстан				
30	Кукморский район	Ярмарка	-26,5±0,1	-26,5±0,2	—
	Республика Марий Эл				
31	Калеево	Ярмарка	-27,4±0,2	-26,0±0,2	лес
	Курская область				
32	Золотухинский район	Ярмарка	-26,1±0,2	-27,4±0,2	луг
	Липецкая область				
33	Верховье Дона	Ярмарка	-24,3±0,2	-24,6±0,2	луг
	Республика Адыгея				
34	п. Краснооктябрьский	Ярмарка	-28,4±0,1	-26,8±0,2	лес
	Пензенская область				
35	Сердобский район	Ярмарка	-27,6±0,1	-25,7±0,2	лес

По данным в таблице 25 видно, что величина $\delta^{13}\text{C}$ образцов пыльцевой обножки с лесных пастек ниже величины $\delta^{13}\text{C}$ образцов пыльцевой обножки с луговых пастек. Иными словами, изотопный состав углерода пыльцевой обножки лесных экосистем легче изотопного состава углерода луговых экосистем. Данное различие можно объяснить «эффектом лесного полога»: концентрация ^{13}C в растениях имеет четко выраженный вертикальный градиент в условиях плотного древостоя и имеет в приземном слое минимальное значение. Это связано с особенностями фотосинтеза растений в условиях затенения (лесной полог) и с поглощением обедненным ^{13}C CO_2 , выделяемым почвой и образующегося в результате гниения опавших листьев на лесной подстилке [188–190].

3.7.2 Географическое происхождение

Исследование вопроса географического происхождения меда ориентировано на гипотезу о взаимосвязи природного фракционирования изотопов водорода, углерода и кислорода с климатическими условиями географического региона происхождения продукта пчеловодства. Согласно данной гипотезе образцы меда, произведенные в регионах с высокой солнечной активностью и более высокими температурами, будут характеризоваться более высоким содержанием тяжелых изотопов углерода (^{13}C), водорода (^2H) и кислорода (^{18}O), а для образцов меда из регионов с более холодным климатом наоборот будет характерно содержание легких изотопов углерода (^{12}C), водорода (^1H) и кислорода (^{16}O).

3.7.2.1 Углерод

Значения величины $\delta^{13}\text{C}$ меда имеют тенденцию к увеличению с увеличением количества солнечных дней и, следовательно, с ростом средней температуры и уменьшением средней влажности. На рисунке 33 представлены диапазоны вариаций величины $\delta^{13}\text{C}$ проанализированных образцов меда и российских образцов меда, представленных в литературе.

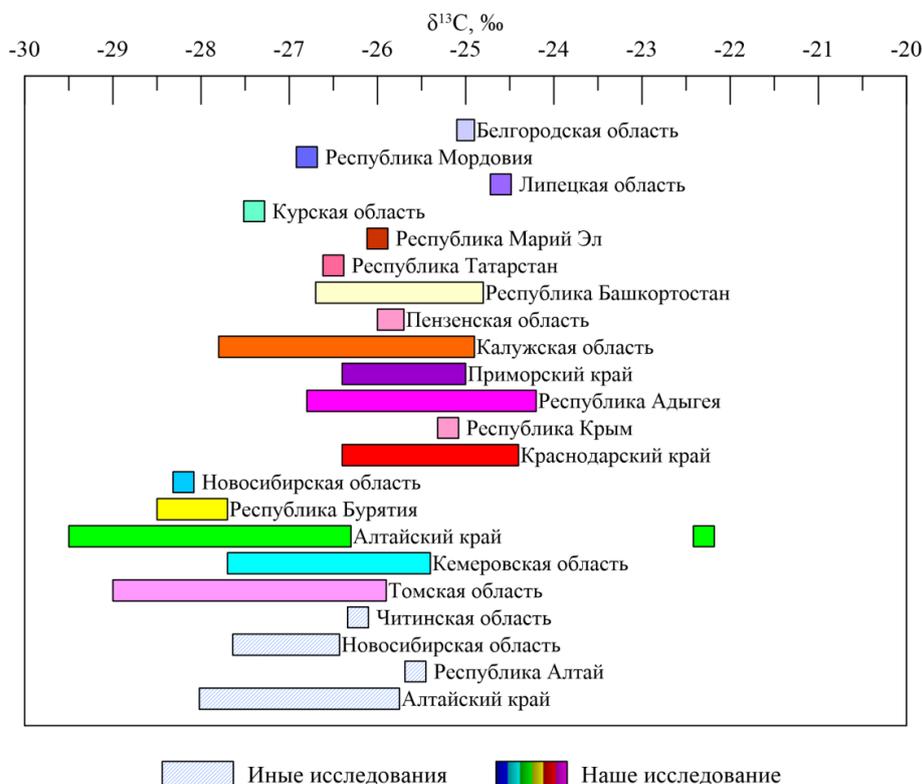


Рисунок 33 – Диапазоны величины $\delta^{13}\text{C}$ образцов меда, отобранных на территории Российской Федерации [25, 36]

Высокие значения $\delta^{13}\text{C}$ характерны для образцов меда из регионов с теплым климатом. Низкие величины $\delta^{13}\text{C}$ имеют образцы меда из регионов Сибири с более низкой средней температурой и более высокой влажностью воздуха. Данную тенденцию подтверждают исследования изотопного состава углерода меда по всему миру (рисунок 34).

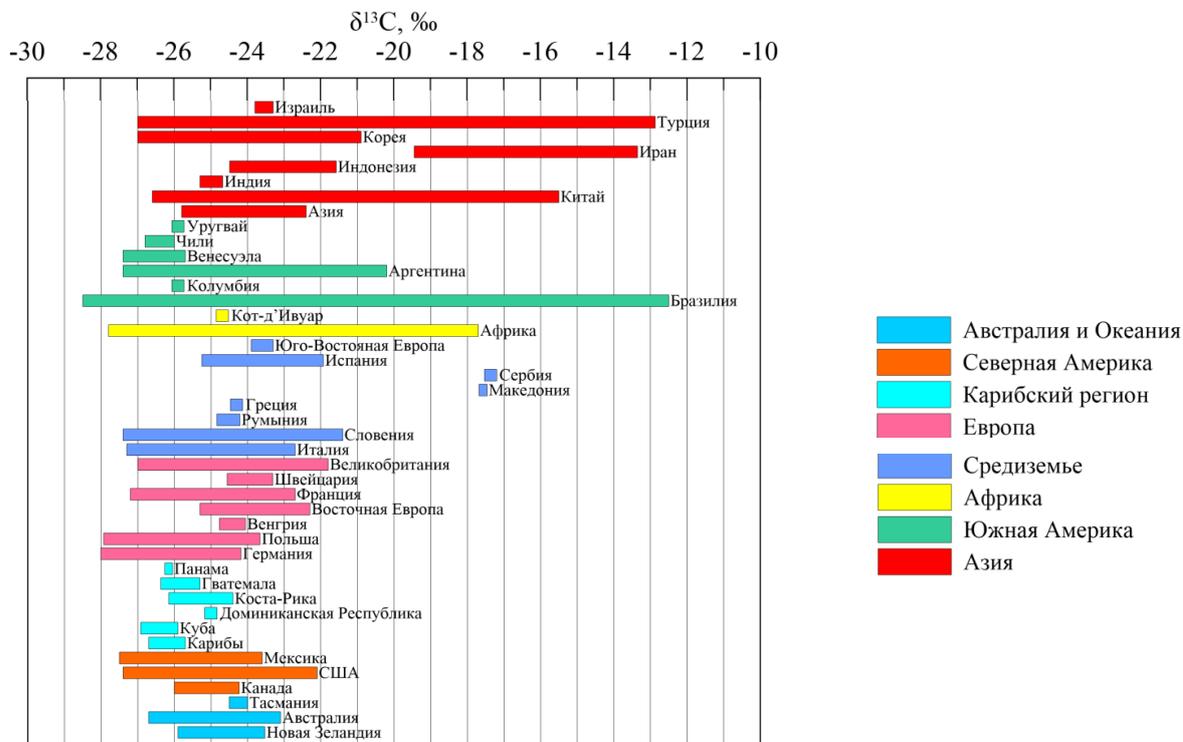


Рисунок 34 – Диапазоны величины $\delta^{13}\text{C}$ меда из литературных данных по всему миру [1–6, 8–15, 24, 191–197]

Величина $\delta^{13}\text{C}$ образцов меда Томской области варьируется от $-29,0$ до $-25,9\%$. Сибирский мед (алтайский, томский, бурятский, кемеровский и новосибирский) показал самые низкие значения величины $\delta^{13}\text{C}$ – от $-29,5$ до $-25,4\%$. Наибольший разброс значений величины $\delta^{13}\text{C}$ в $3,2\%$ зафиксирован в образцах Алтайского меда, что можно объяснить большим количеством разных видов меда с разным временем сбора и, следовательно, с разными диапазонами температур, ведущими к разным значениям величины $\delta^{13}\text{C}$. Эти колебания можно объяснить разными климатическими условиями даже на небольших расстояниях в зоне отбора проб. Например, в Алтайском крае на расстоянии всего в $200\text{--}300$ км существует степная зона с сухим и засушливым климатом и предгорья Алтая с более прохладным климатом. Несмотря на эти вариации мезоклимата, разница в «глобальном» климате России достаточно заметна, что и продемонстрировали вариации величины $\delta^{13}\text{C}$ в образцах меда.

Для регионов европейской части России с умеренно континентальным климатом (Калужская, Липецкая, Курская, Пензенская и Белгородская области, Марий Эл, Татарстан,

Мордова) верхняя граница диапазона вариации величины $\delta^{13}\text{C}$ выше ($-27,8 \dots -24,6\%$) и среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ равно $-26,1 \pm 1,1\%$, что также выше средних значений изотопного состава углерода для образцов из Томской ($-27,0 \pm 0,7\%$) и Кемеровской ($-26,8 \pm 0,9\%$) областей.

Самые высокие значения, как и ожидалось, обнаружены для образцов меда из регионов с теплым климатом: вблизи Черного моря со значениями величины $\delta^{13}\text{C}$ от $-26,8$ до $-24,2\%$ (крымский, туапсинский, краснодарский мед) и в Приморском крае ($-26,4 \dots -25,0\%$). Средние значения величины $\delta^{13}\text{C}$ приведены в таблице 26.

Увеличение средних значений, а также верхней границы диапазона вариаций заметно, но следует иметь в виду, что также существует изменчивость в пределах каждой отдельной области. Эта изменчивость обычно невелика, но в некоторых случаях может быть значительной (разброс значений величины $\delta^{13}\text{C}$ для образцов меда Томской области и Алтайского края составил $3,1$ и $3,2\%$ соответственно). Такой диапазон разброса значений может быть объяснен либо различными локальными климатическими условиями (даже на небольших расстояниях в районе отбора проб), либо разным временем сбора меда (с разными температурными диапазонами, приводящими к различным значениям величины $\delta^{13}\text{C}$), либо подделкой меда сахарными сиропами.

Таблица 26 – Данные средних значений величин $\delta^{13}\text{C}$, δD и $\delta^{18}\text{O}$ в продуктах пчеловодства и интерполированных величины δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод за период апрель–октябрь в регионах отбора образцов меда (‰)

Регион	$\delta^{13}\text{C}$	δD					$\delta^{18}\text{O}$				
	мед	мед	пыльцевая обножка	подмор пчел	воск	метеорные воды	мед	пыльцевая обножка	подмор пчел	воск	метеорные воды
Томская область	-27,0±0,7 (n=41)	-100,1±15,7 (n=10)	-105,7±14,9 (n=8)	-103,9±4,3 (n=6)	-291,4±7,5 (n=14)	-99,6±24,7	+17,8±1,3 (n=9)	+16,4±0,8 (n=8)	+2,7±3,7 (n=6)	-46±16 (n=11)	-12,5±3,7
Алтайский край	-27,5±1,4 (n=28)	-82,1±22,6 (n=20)	-86,9±20,5 (n=3)	-111,7±24,6 (n=2)	-308,6±1,7 (n=1)	-72,1±21,9	+18,2±2,9 (n=13)	+17,3±4,6 (n=3)	+12,5±0,05 (n=2)	-57,8±0,8 (n=1)	-9,3±3,4
Кемеровская область	-26,8±0,9 (n=5)	-89,1±13,9 (n=3)	-89,2±30,9 (n=2)	-118,3±31,2 (n=2)	-250±68 (n=2)	-78,3±22,8	+17,5±6,0 (n=3)	+17,7±2,2 (n=2)	+4,9±2,5 (n=2)	-39,7±0,7 (n=1)	-10,8±3,5
Новосибирская область	-28,2±0,2 (n=1)	-81,7±1,1 (n=1)	—	—	—	-77,9±23,6	+14,8±0,3 (n=1)	—	—	—	-10,6±3,6
Республика Бурятия	-28,0±0,4 (n=4)	-84,3±5,0 (n=4)	—	—	—	-85,9±22,0	—	—	—	—	-11,2±3,0
Республика Башкортостан	-26,1±0,7 (n=6)	-68,1±20,6 (n=6)	—	—	—	-55,9±15,2	+21,1±2,8 (n=6)	—	—	—	-8,5±2,0
Республика Марий Эл	-26,0±0,2 (n=1)	-40,5±0,8 (n=1)	-75,7±0,9 (n=1)	-90,3±0,9 (n=1)	—	-65,0±15,5	—	+16,7±0,4 (n=1)	+3,7±0,6 (n=1)	—	-9,0±2,0
Республика Мордовия	-26,8±0,2 (n=1)	-70,4±0,8 (n=1)	—	—	—	-56,9±14,0	+21,2±0,3 (n=1)	—	—	—	-8,1±1,9
Белгородская область	-25,0±0,1 (n=2)	-41,3±7,7 (n=2)	—	—	—	-42,1±14,0	+25,2±0,5 (n=2)	—	—	—	-5,8±1,9
Калужская область	-26,9±1,3 (n=5)	-53,2±26,1 (n=5)	-87,8±0,8 (n=1)	-87,1±3,8 (n=2)	-257,0±5,8 (n=2)	-55,9±14,5	+19,9±2,8 (n=5)	+22,7±0,4 (n=1)	+6,3±1,7 (n=2)	-50,5±10,2 (n=2)	-7,4±1,9
Курская область	-27,4±0,2 (n=1)	-58,3±1,2 (n=1)	-47,2±1,0 (n=1)	-75,8±1,1 (n=1)	—	-44,4±14,1	+21,8±0,4 (n=1)	+18,1±0,5 (n=1)	+6,7±0,5 (n=1)	—	-6,0±1,9
Липецкая	-24,6±0,2 (n=1)	-42,6±1,1 (n=1)	-66,4±0,9 (n=1)	-91,2±1,3 (n=1)	—	-49,6±14,0	+26,0±0,3 (n=1)	+17,8±0,5 (n=1)	+2,5±0,6 (n=1)	—	-6,8±1,8

область											
Пензенская область	-25,8±0,2 (n=2)	-54,3±1,4 (n=1)	—	-97,4±1,0 (n=1)	—	-57,3±14,4	+19,9±0,4 (n=1)	—	+5,8±0,5 (n=1)	—	-8,0±1,9
Приморский край	-25,6±0,7 (n=3)	-65,2±4,7 (n=3)	—	—	—	-50,6±11,7	+20,0±2,8 (n=3)	—	—	—	-7,0±1,7
Краснодарский край	-25,5±0,8 (n=10)	-46,2±20,4 (n=9)	-52,0±1,1 (n=1)	-76,5±1,2 (n=1)	-259,1±6,5 (n=2)	-29,9±13,2	+23,4±1,7 (n=9)	+26,6±0,6 (n=1)	+6,6±0,5 (n=1)	-50,3±0,4 (n=2)	-4,7±1,8
Республика Адыгея	-25,7±1,3 (n=3)	-67,8±17,1 (n=3)	—	-78,6±1,1 (n=1)	—	-34,0±14,3	+21,7±3,8 (n=3)	—	+9,1±0,4 (n=1)	—	-5,3±1,9
Республика Крым	-25,2±0,2 (n=1)	-43,2±1,1 (n=1)	—	—	—	-37,3±14,6	+24,9±0,3 (n=1)	—	—	—	-5,3±1,9

3.7.2.2 Водород и кислород

Известно, что фракционирование изотопов водорода и кислорода в осадках в значительной степени зависит от климатических условий и преобладающего региона-источника атмосферной влаги [198]. Значение величин δD и $\delta^{18}O$ изменяется предсказуемым образом: уменьшается с увеличением расстояния до моря, с увеличением высоты и снижением средней температуры в конкретном регионе [199], т.е. более низкие значения величин δD и $\delta^{18}O$ соответствуют высокогорным, внутренним и прохладным климатическим регионам, а более высокие значения – низкогорным, прибрежным и теплым климатическим регионам. На рисунке 35 представлены результаты анализа изотопного состава водорода и кислорода в меде из разных регионов России.

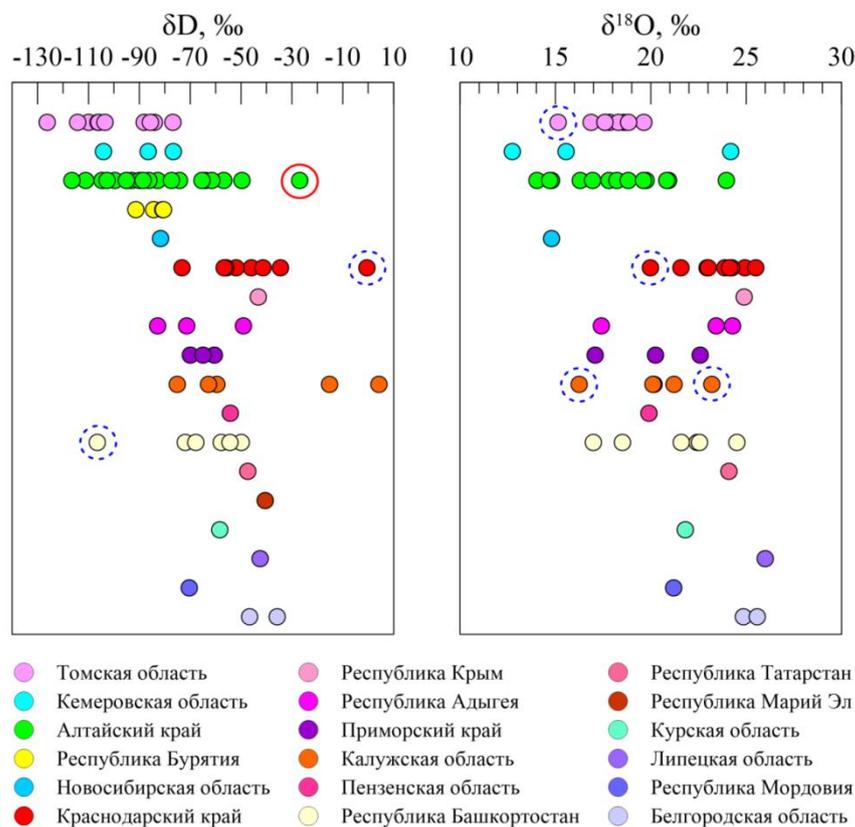


Рисунок 35 – Вариации значений величин δD и $\delta^{18}O$ в образцах меда из разных регионов России; синими пунктирными кругами обозначены экстремальные значения; красным сплошным кругом обозначен сфальсифицированный образец

Самые высокие значения величины δD обнаружены в Черноморском регионе с теплым климатом (кабардинский и туапсинский меда со значениями величины $\delta D -34,5 \pm 2,8\%$ и $-41,4 \pm 1,9\%$, соответственно). Образцы меда, отобранные в регионах с умеренными

климатическими условиями, например, Калужская область (среднее значение величины δD $-69,0 \pm 8,6\%$), республика Башкортостан (среднее значение величины δD равно $-67,2 \pm 21,3\%$) показали промежуточные средние значения. Мед из Уссурийска (Приморский край, с умеренным муссонным климатом) показал среднее значение величины δD , равное $-65,2 \pm 4,7\%$. Самые низкие значения зафиксированы для образцов из Сибирского региона: для Томской области среднее значение величины δD равно $-97,6 \pm 13,8\%$, для образцов меда из Кемеровской области и Алтайского края средние значения величины δD составили $-95,3 \pm 12,4\%$ и $-95,8 \pm 17,7\%$ соответственно.

Дополнительно проведен анализ изотопного состава водорода белковой фракции нескольких образцов меда (таблица 27). Диапазон вариации величины δD по всем образцам белковой фракции меда составляет от $-166,1 \pm 3,0\%$ до $-59,7 \pm 2,5\%$. Самые низкие значения величины δD получены для белковой фракции меда из Бурятии, среднее значение величины δD составило $-159,4 \pm 3,6\%$. Самое высокое значение величины δD обнаружено в белковой фракции меда из Белоруссии ($-59,7 \pm 2,5\%$). Учитывая преобладающий перенос воздушных масс с Атлантического океана на Евразийскую территорию и процессы фракционирования изотопов водорода в атмосферной влаге, такая картина распределения значений величины δD верна: для образца из Белоруссии, как региона близко расположенного к Атлантическому океану, характерны самые высокие значения величины δD , а для образцов из Бурятии (самый удаленный от Атлантического океана регион) – самые низкие значения величины δD .

Таблица 27 – Изотопный состав водорода (δD) образцов белковой фракции, экстрагированной из меда (‰)

№	Год сбора	Регион	белковая фракция	мед
1	2022	Алтайский край, гречиха	$-132,5 \pm 1,5$	$-74,2 \pm 3,0$
2	2022	Алтайский край, горный	$-166,1 \pm 3,0$	$-89,9 \pm 3,0$
3	2022	Алтайский край, разнотравье	$-143,8 \pm 2,2$	$-95,2 \pm 1,4$
4	2022	Алтайский край, горный	$-152,9 \pm 0,5$	$-86,2 \pm 1,4$
5	2022	Алтайский край, Алтайский район	$-137,2 \pm 2,9$	$-65,3 \pm 0,5$
6	2022	Алтайский край, Алтайский район	$-146,1 \pm 3,0$	$-77,3 \pm 1,2$
7	2022	Алтайский край, Рубцовский район	$-159,7 \pm 1,7$	$-88,6 \pm 0,6$
8	2022	Бурятия, Мухоршибирский район	$-163,4 \pm 1,8$	$-84,4 \pm 1,2$
9	2022	Бурятия, Джидинский район	$-156,5 \pm 1,6$	$-91,4 \pm 2,0$
10	2022	Бурятия, Бичурский район	$-158,4 \pm 1,7$	$-80,6 \pm 1,4$
11	2022	Белоруссия, Гродненский район	$-59,7 \pm 2,5$	$-39,5 \pm 1,0$

Для Алтайского края среднее значение величины δD равно $-148,3 \pm 12,0\%$, разница между самым низким ($-166,1 \pm 3,0\%$) и самым высоким ($-132,5 \pm 1,5\%$) значениями величины δD составила $33,6\%$. Широкий диапазон разброса значений величины δD говорит о том, что образцы меда, из которых выделены белковые фракции, взяты из региона, на территории которого имеются зоны с различными климатическими условиями, что полностью соответствует описанию климата Алтайского края.

В целом, величина δD белковой фракции меда оказалась ниже величины δD меда. Разница между величиной δD белковой фракции меда и величиной δD меда для образцов из Бурятии составила 74% , для образцов Алтайского края – 66% , для Белоруссии – 20% . Работ по исследованию изотопного состава водорода белковой фракции меда очень мало. В работе [129] представлены данные для образцов меда из Европы. Вариация по всем образцам белковой фракции меда составила от -149% (Германия) до -32% (Португалия).

Картина распределения значений изотопного состава кислорода в меде аналогична распределению значений изотопного состава водорода по климатическим зонам (рисунок 35). Самое высокое среднее значение зафиксировано в Черноморском регионе ($+23,4 \pm 2,2\%$), промежуточное значение ($+22,0 \pm 2,7\%$) для Европейских регионов России, а самое низкое среднее значение – в Сибири ($+17,4 \pm 2,1\%$).

Сравнительный анализ изотопного состава водорода и кислорода в 48 образцах меда нашего исследования и в 38 образцах меда, отобранных в 16 штатах США [21] показал, что для образцов американского меда диапазон значений величин δD (от -110 до $+10\%$) и $\delta^{18}O$ (от $+22$ до $+37\%$) имеет более высокую верхнюю границу значений и шире, чем для образцов российского меда, для которого величина δD меняется от $-116,6$ до $-34,5\%$, а величина $\delta^{18}O$ – от $+12,7$ до $+25,7\%$. Более тяжелый изотопный состав образцов американского меда обусловлен климатическими факторами, т.к. большая часть образцов американского меда отобрана в южных штатах с субтропическим климатом, в зоне тропиков Флориды и в прибрежных районах Калифорнии со средиземноморским климатом.

Измеренные значения величин δD и $\delta^{18}O$ образцов меда сравнивали со значениями величин δD и $\delta^{18}O$ атмосферных осадков (метеорных вод), выпадающих в регионах отбора образцов меда. Величины δD и $\delta^{18}O$ метеорных вод рассчитывались посредством изотопного онлайн-калькулятора, размещенного на портале Waterisotopes Database с использованием интерполированных данных значений величин δD и $\delta^{18}O$ метеорных вод. Анализ данных (таблица 26) демонстрирует корреляционную связь между соотношением изотопов водорода и кислорода в метеорных водах и меде. Коэффициент корреляции между величиной δD в меде и величиной δD метеорных вод за период летной активности пчел (апрель–октябрь) равен $0,93$, а для величины $\delta^{18}O$ – $0,85$ (рисунок 36).

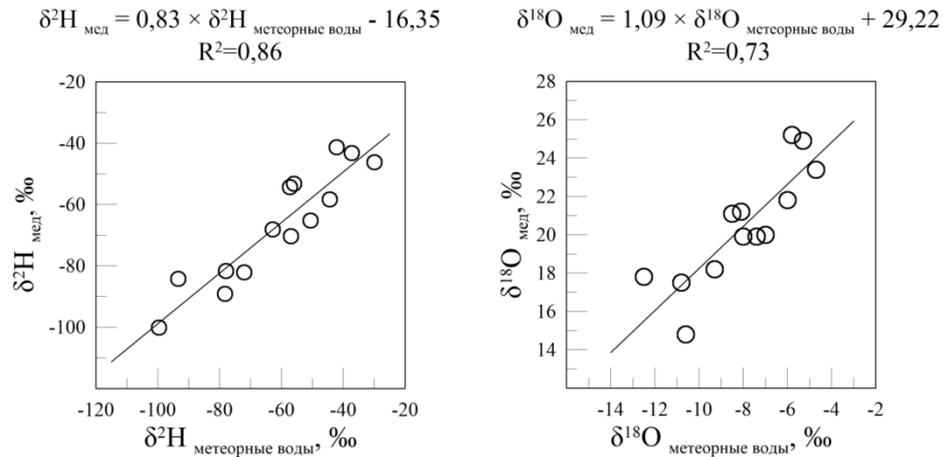


Рисунок 36 – Графики корреляций измеренных значений величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ меда по сравнению с интерполированными данными величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод в регионах отбора образцов меда (R^2 – коэффициент детерминации)

В таблице 28 приведены коэффициенты корреляции между величинами δD и $\delta^{18}\text{O}$ образцов продуктов пчеловодства по регионам и величинами δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод в регионах отбора образцов. Средние значения величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ образцов продуктов пчеловодства по регионам, а также величины δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод в регионах отбора образцов представлены в таблице 26.

Таблица 28 – Значения коэффициентов корреляции (r) между средними величинами δD и $\delta^{18}\text{O}$ образцов продуктов пчеловодства по регионам и величинами δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод за период апрель–октябрь

Продукты пчеловодства	Метеорные воды	
	r (δD)	r ($\delta^{18}\text{O}$)
мед	0,93	0,85
пыльцевая обножка	0,91	0,68
подмор пчел	0,81	0,29
воск	0,46	-0,40

Установлена корреляционная связь между величинами δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод и величинами δD и $\delta^{18}\text{O}$ подмора пчел, пыльцевой обножки и воска. Высокие коэффициенты корреляции также получены между величиной δD метеорных вод и величинами δD пыльцевой обножки (рисунок 37) и подмора пчел (рисунок 38). Умеренная корреляционная связь получена для величин δD воска и величин δD метеорных вод (рисунок 39).

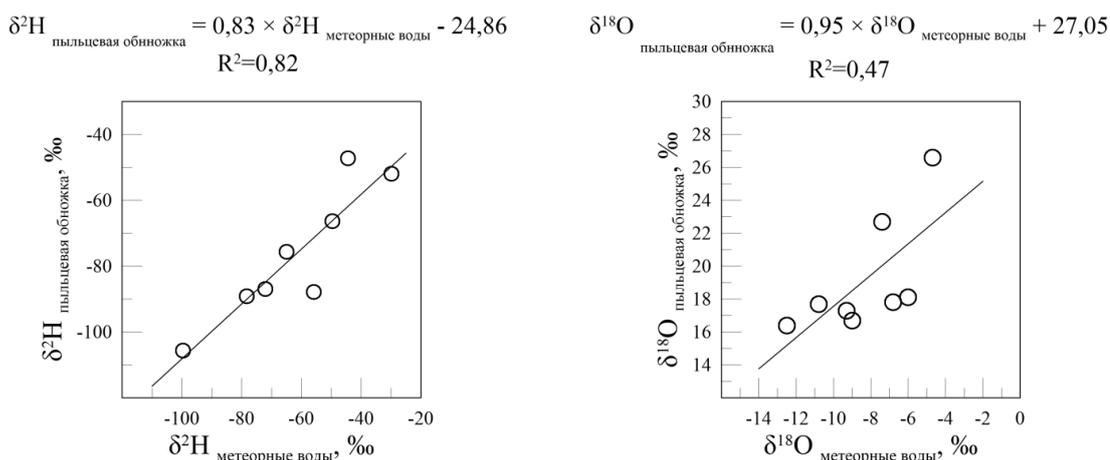


Рисунок 37 – Графики корреляций измеренных значений величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ пыльцевой обножки по сравнению с интерполированными данными величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод в регионах отбора образцов (R^2 – коэффициент детерминации)

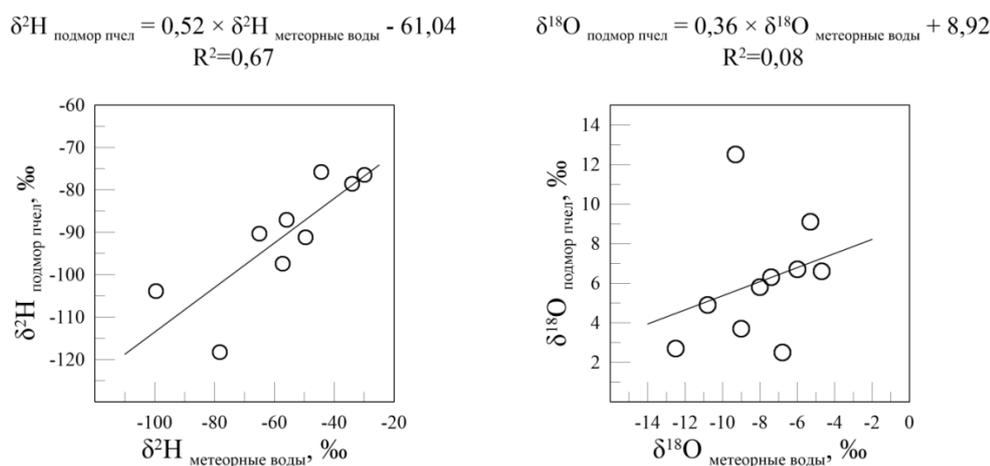


Рисунок 38 – Графики корреляций измеренных значений величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ образцов подмора пчел по сравнению с интерполированными данными величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод в регионах отбора образцов (R^2 – коэффициент детерминации)

Между величиной $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод и величиной $\delta^{18}\text{O}$ пыльцевой обножки наблюдается средняя корреляционная связь (рисунок 37). Значимая связь между величиной $\delta^{18}\text{O}$ образцов подмора пчел и величинами $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод отсутствует (рисунок 38). Умеренная отрицательная корреляционная связь выявлена между величинами $\delta^{18}\text{O}$ воска и метеорных вод (рисунок 39).

Таким образом, как и предполагалось, медоносные растения и подмор пчел фиксируют соотношение изотопов водорода местных атмосферных осадков, и эта «запись» сохраняется в меде, хотя и с некоторой трансформацией из-за процессов фракционирования, когда нектар превращается в мед. В воске такая закономерность прослеживается слабо. Сильную и среднюю

корреляционную связь с изотопами кислорода локальных осадков показали образцы меда и пыльцевой обножки соответственно.

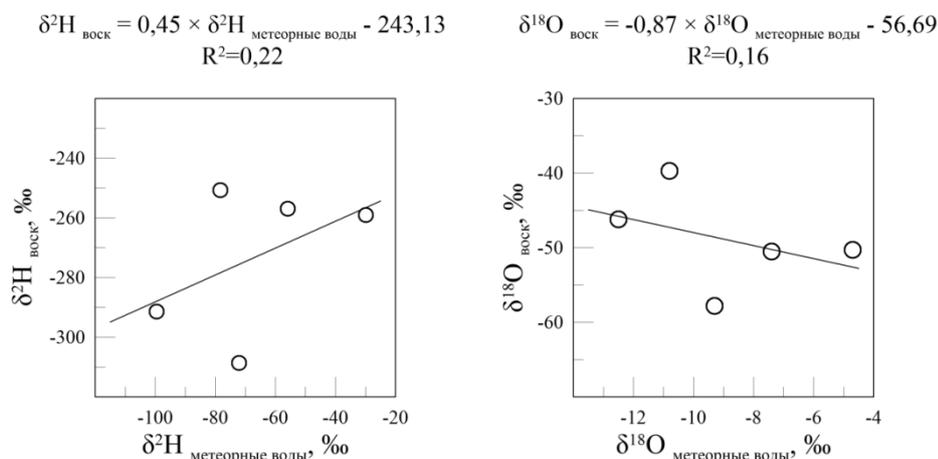
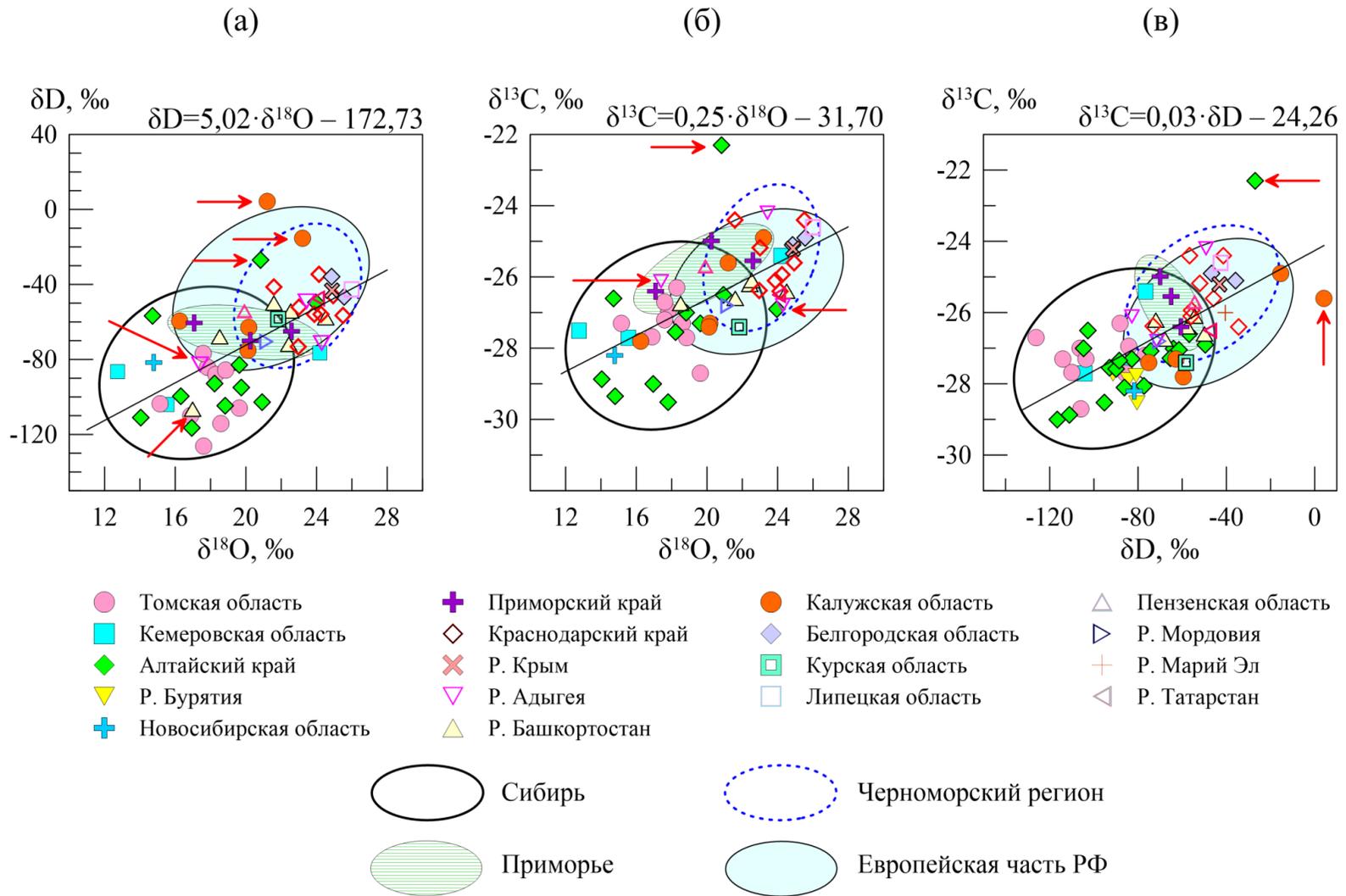


Рисунок 39 – Графики корреляций измеренных значений величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ образцов воска по сравнению с интерполированными данными величин δD и $\delta^{18}\text{O}$ метеорных вод в регионах отбора образцов (R^2 – коэффициент детерминации)

На рисунке 40 представлены графики зависимости между изотопными составами углерода, водорода и кислорода в 74 образцах меда. Для большей наглядности также построены графики зависимостей изотопных составов углерода, водорода и кислорода по средним значениям для разных географических регионов (рисунок 41). Для всех парных измерений между изотопами водорода и углерода в образцах меда наблюдается корреляционная связь с коэффициентом корреляции 0,68 (является статистически значимым при уровне значимости 0,05). Коэффициент корреляции для изотопов водорода и кислорода составляет 0,63 (является статистически значимым при уровне значимости 0,05). Между изотопами кислорода и углерода коэффициент корреляции равен 0,64 (является статистически значимым при уровне значимости 0,05). Несмотря на среднюю корреляционную связь (коэффициенты корреляции удовлетворяют условию $0,50 < r < 0,69$), на графиках хорошо прослеживается «изотопный ландшафт», соответствующий определенному географическому региону происхождения меда:

- образцы из сибирских регионов (с континентальным климатом) имеют самые низкие значения величин $\delta^{13}\text{C}$, δD и $\delta^{18}\text{O}$;
- образцы из черноморского региона (с теплым морским климатом) имеют самые высокие значения величин $\delta^{13}\text{C}$, δD и $\delta^{18}\text{O}$;
- для образцов из европейской части России (с умеренно континентальным климатом), так же как и для образцов из Приморья (муссонный климат) характерны промежуточные значения величин $\delta^{13}\text{C}$, δD и $\delta^{18}\text{O}$.



Красные стрелки указывают на образцы, выпадающие из выделенных областей

Рисунок 40 – Графики зависимостей величины δD от величины $\delta^{18}O$ (а), величины $\delta^{13}C$ от величины $\delta^{18}O$ (б), величины $\delta^{13}C$ от величины δD (в) образцах меда, отобранных в разных климатических регионах России

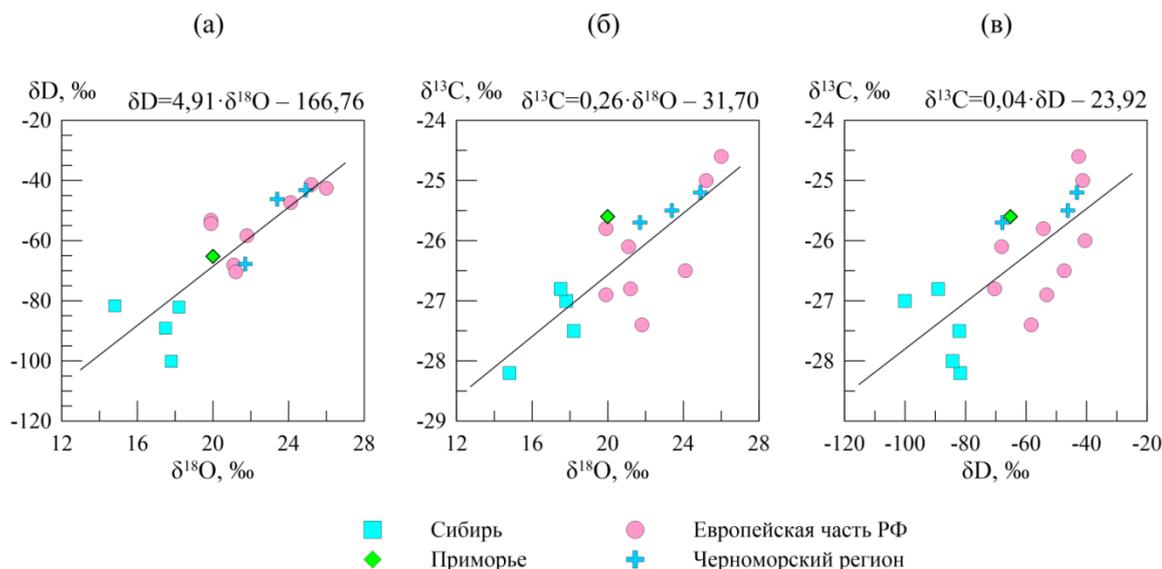


Рисунок 41 – Графики зависимостей средних значений величин: δD от $\delta^{18}O$ (а), $\delta^{13}C$ от $\delta^{18}O$ (б), $\delta^{13}C$ от δD (в) в образцах меда, отобранных в разных климатических регионах России

Совместный анализ изотопного состава углерода, водорода и кислорода позволил выявить образцы поддельных медов по географической принадлежности. Так гречишный мед из Республики Башкортостан (географическое происхождение указано на товарной этикетки меда), приобретенный на медовой ярмарке, показал значения изотопного состава трех элементов ($\delta^{13}C = -28,6 \pm 0,1\text{‰}$, $\delta D = -106,5 \pm 2,1\text{‰}$ и $\delta^{18}O = +17,0 \pm 0,5\text{‰}$), соответствующие образцам меда из Сибирского региона (указан красной стрелкой на рисунке 40 (а)). А для образца алтайского меда определены значения изотопного состава углерода (величина $\delta^{13}C$ равна $-26,6 \pm 0,1\text{‰}$) и водорода (величина δD равна $-56,9 \pm 1,1\text{‰}$), соответствующие Европейскому региону России.

Также два образца из Калужской области (указаны красными стрелками на рисунке 40 (а) и (в)) по значениям изотопного состава подходят Черноморскому региону. А образец меда из Адыгеи (указан красной стрелкой на рисунке 40 (а) и (б)) по значениям изотопного состава водорода ($-82,8 \pm 2,0\text{‰}$) и кислорода ($+17,4 \pm 0,5\text{‰}$) соответствует образцам меда из Сибири. Образец меда из Алтайского края, происхождение которого указано на товарной этикетки меда, приобретен в медовой лавке в Москве. Значения величин δD ($-27,0 \pm 2,8\text{‰}$), $\delta^{18}O$ ($+20,8 \pm 0,6\text{‰}$), $\delta^{13}C$ ($-22,3 \pm 0,2\text{‰}$) данного образца на всех графиках взаимозависимостей величин изотопных составов лежит вне выделенных географических областей (указан красной стрелкой на рисунке 40), что подтверждает факт фальсификации данного образца меда.

Впервые совместное исследование изотопных сигнатур водорода, кислорода и углерода в образцах меда показало возможность использования изотопных данных для определения трех

климатических зон регионов происхождения меда в Российской Федерации со специфическими диапазонами значений изотопного состава:

- 1 зона – юг России, Черноморский регион с теплым морским климатом – $\delta^{13}\text{C}$: от -27 до -24‰ , δD : от -80 до 0‰ и $\delta^{18}\text{O}$: от $+20$ до $+28\text{‰}$;
- 2 зона – Европейская часть России с умеренно континентальным климатом – $\delta^{13}\text{C}$: от -28 до -24‰ , δD : от -80 до -40‰ и $\delta^{18}\text{O}$: от $+16$ до $+28\text{‰}$ перекрывается с Приморьем (характерен муссонный климат) – $\delta^{13}\text{C}$: от -27 до -24‰ , δD : от -80 до -50‰ и $\delta^{18}\text{O}$: от $+16$ до $+24\text{‰}$;
- 3 зона – Сибирь с континентальным климатом – $\delta^{13}\text{C}$: от -30 до -25‰ , δD : от -130 до -40‰ и $\delta^{18}\text{O}$: от $+12$ до $+22\text{‰}$.

4 Проверка подлинности меда на предмет фальсификации сахарными сиропами

4.1 Экспериментальное исследование изменения изотопного состава меда при разбавлении меда инвертным сахарным сиропом

Многие производители меда фальсифицируют мед путем внесения разрешенных и неразрешенных добавок. Самой распространенной добавкой является инвертный сироп. Кроме этого, некоторые пчеловоды используют инвертный сироп для подкормки пчёл в весенний и зимний периоды с целью экономической выгоды (инвертный сироп стоит дешевле натурального меда).

Инвертный сироп получают путем нагревания водного раствора сахара с лимонной кислотой, при этом происходит процесс инверсии, заключающийся в расщеплении сахарозы на фруктозу и глюкозу. Инвертный сироп обладает антикристаллизационными и влагосвязывающими свойствами, что увеличивает срок хранения изделий без потери качества.

За рубежом для обнаружения фальсификации меда принято использовать утвержденную Ассоциацией аналитической химии официальную методику с анализом изотопного состава углерода белковой фракции меда (протеин) – АОАС 998.12-1998 [200]. Данная методика основывается на том, что изотопный состав углерода углеводной и белковой фракции должен иметь одинаковые значения, так как обе эти фракции в натуральном меде формируются из одного источника одновременно. Следовательно, изотопный состав белковой фракции меда не изменится при добавлении сахарного сиропа в мед, поэтому изотопный состав белковой фракции меда является «внутренним стандартом».

При добавлении сахарного или инвертного сиропа в мед величина $\delta^{13}\text{C}$ меда изменится, а величина $\delta^{13}\text{C}$ белковой фракции меда не изменится, так как это добавленное вещество, а не собранное непосредственно медоносной пчелой. Поскольку инвертный сироп готовят из сахара, изначально проведено исследование изотопных составов углерода, водорода и кислорода различных образцов сахара. Данные анализа величин δD , $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^{13}\text{C}$ образцов сахара представлены в таблице 29.

Анализ изотопного состава углерода показал, что семь образцов сахара получены из растений с C3 типом фотосинтеза, т.е. являются свекловичными сахарами (среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ для семи образцов равно $-25,5\pm 0,4\text{‰}$), а три образца – из растений с C4 типом фотосинтеза, т.е. тростниковый сахар (среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}$ равно $-12,9\pm 1,9\text{‰}$) [201].

Таблица 29 – Средние значения величин δD , $\delta^{18}O$ и $\delta^{13}C$ образцов сахара (‰)

№	Образец	δD	$\delta^{18}O$	$\delta^{13}C$
1	Белый сахар из торгового центра	-49,6±1,2	31,8±0,5	-25,4±0,1
2	Белый сахар, Великобритания	-55,4±1,1	33,0±0,2	-26,3±0,2
3	Тростниковый коричневый сахар, Колумбия	-28,6±1,5	29,3±0,6	-12,9±0,2
4	Белый сахар из ресторана быстрого питания Бургер Кинг	-80,8±1,4	32,3±0,3	-25,0±0,2
5	Белый сахар из кофейни	-93,7±1,1	22,8±0,3	-25,5±0,1
6	Белый сахар из ресторана быстрого питания KFC	-63,8±1,6	30,1±0,6	-25,2±0,1
7	Белый сахар из ресторана быстрого питания McDonald's	-82,5±1,5	29,7±0,5	-25,5±0,1
8	Белый сахар, Германия	-46,3±1,1	33,3±0,2	-25,7±0,2
9	Белый сахар, Гонконг	-26,2±1,2	29,4±0,4	-15,8±0,1
10	Коричневый сахар, Индонезия	-4,1±1,5	28,1±0,5	-12,2±0,2

Для эксперимента выбраны четыре образца меда и два образца сахара – №1 свекловичный сахар и №3 тростниковый сахар. Приготовлены модельные смеси инвертных сахарных сиропов из свекловичного и тростникового сахаров, полученные путем гидролиза сахарозы в присутствии кислоты по следующей методике: 300 г сахара смешивали со 130 мл воды и 2 г лимонной кислоты, а затем после растворения сахара смесь нагревали в течение часа при 108°C [36]. На основе приготовленных инвертных сиропов и четырех образцов натурального меда приготовлены модельные смеси с разным содержанием инвертных сиропов (5, 10, 25 и 50% сиропа). Результаты определения их изотопных составов углерода и водорода представлены в таблице 30.

Разница между величиной $\delta^{13}C$ белковой фракции образцов натурального меда и величиной $\delta^{13}C$ сиропа из свекловичного сахара (-25,4±0,1‰) составляет от -1,8 до +1‰. Поэтому при разбавлении натурального меда, величина $\delta^{13}C$ которого близка к величине $\delta^{13}C$ сиропа из свекловичного сахара, даже большим количеством (50%) инвертного сиропа из свекловичного сахара или при добавлении чистого свекловичного сахара изотопный состав будет меняться незначительно (до 0,5‰). Разницу (до 1‰) можно увидеть для образцов меда, величина $\delta^{13}C$ которых ниже величины $\delta^{13}C$ свекловичного сахара на 2 и более промилле (образец №1 в таблице 30).

Таблица 30 – Изотопный состав углерода модельных смесей меда, разбавленных инвертными сиропами (%)

Мед	Протеин	$\delta^{13}\text{C}_{\text{мед+сироп}}$					$\delta^{13}\text{C}_{\text{протеин}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{мед+сироп}}$				
		% содержания сиропа ($\delta^{13}\text{C} = -12,6 \pm 0,2\%$) из тростникового сахара*									
		0	5	10	25	50	5	10	25	50	
№1	-27,2±0,1	-27,0±0,1	-26,0±0,2	-25,3±0,2	-23,6±0,2	-19,9±0,2	-1,2	-1,9	-3,6	-7,3	
№2	-26,0±0,2	-26,4±0,2	-25,2±0,2	-23,8±0,2	-22,7±0,2	-19,3±0,2	-0,8	-2,2	-3,3	-6,7	
№3	-26,8±0,1	-27,7±0,2	-25,4±0,2	-23,6±0,2	-22,5±0,2	-19,1±0,2	-1,4	-3,2	-4,3	-7,7	
№4	-24,4±0,1	-24,0±0,2	-22,5±0,2	-21,7±0,2	-20,3±0,2	-17,4±0,2	-1,9	-2,7	-4,1	-7,0	
Мед	Протеин	$\delta^{13}\text{C}_{\text{мед+сироп}}$					$\delta^{13}\text{C}_{\text{протеин}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{мед+сироп}}$				
		% содержания сиропа ($\delta^{13}\text{C} = -25,4 \pm 0,1\%$) из свекловичного сахара**									
		0	5	10	25	50	5	10	25	50	
№1	-27,2±0,1	-27,0±0,1	-26,9±0,2	-26,8±0,2	-26,6±0,2	-26,3±0,2	-0,3	-0,4	-0,6	-0,9	
№2	-26,0±0,2	-26,4±0,2	-26,2±0,2	-26,2±0,2	-26,1±0,2	-26,0±0,2	0,2	0,2	0,1	0,0	
№3	-26,8±0,1	-27,7±0,2	-26,9±0,2	-26,7±0,2	-26,6±0,2	-26,3±0,2	0,1	-0,1	-0,2	-0,5	
№4	-24,4±0,1	-24,0±0,2	-23,9±0,2	-24,0±0,2	-24,2±0,2	-24,7±0,2	-0,5	-0,4	-0,2	0,3	
* – величина $\delta^{13}\text{C}$ тростникового сахара равна $-12,9 \pm 0,2\%$											
** – величина $\delta^{13}\text{C}$ свекловичного сахара равна $-25,4 \pm 0,1\%$											

Другую картину можно наблюдать при разбавлении меда инвертным сиропом, приготовленным из тростникового сахара. Разница между величиной $\delta^{13}\text{C}$ белковой фракции образцов меда и величиной $\delta^{13}\text{C}$ сиропа из тростникового сахара ($-12,6 \pm 0,2\%$) существенна – до 15‰. При добавлении даже 5% тростникового сиропа изотопный состав углерода меда меняется более чем на 1‰ и разница между $\delta^{13}\text{C}$ белковой фракцией меда и величиной $\delta^{13}\text{C}$ модельной смеси может достигать 2‰, а при разбавлении меда в два раза (50%) – на 7 и более промилле.

Таким образом, если натуральным мед разбавить любым количеством свекловичного сахара, то изотопный состав углерода изменится незначительно. Однако если натуральный мед разбавить инвертным сиропом, приготовленным из тростникового сахара, то заметная разница изотопных отношений (до 2‰) появится при добавлении даже незначительного количества сиропа (5%). Среднее значение разницы между величиной $\delta^{13}\text{C}$ белковой фракции меда и величиной $\delta^{13}\text{C}$ модельной смеси с 5% инвертного тростникового сиропа составило $-1,3\%$. Данное значение можно рекомендовать использовать при оценке образцов меда на подозрение в фальсификации.

На основании изложенного выше можно сделать вывод, что данный метод сравнения изотопного состава углерода меда и его белковой фракции эффективен при обнаружении меда, фальсифицированного путем добавления тростникового сиропа, и неэффективен при обнаружении фальсификации меда, полученного путем кормления пчел сиропами или добавления сиропов, приготовленных из растений с С3 типом фотосинтеза, таких как сахарная свекла (*Beta vulgaris*) и пшеница (*Triticum vulgare*). Поэтому обнаружение медов, сфальсифицированных сахарными сиропами, полученными из растений с С3 типом фотосинтеза, по-прежнему представляет собой проблему, которая требует совершенствования методов. Для установления факта фальсификации меда путем добавления сиропа из сахара, полученного из растений с С3 типом фотосинтеза, и/или инвертированных сиропов в дальнейшем будут проведены исследования с использованием комбинации методов жидкостной/газовой хроматографии и масс-спектрометрии изотопных соотношений, позволяющих анализировать сложные смеси углеводов, определять содержание глюкозы, фруктозы и сахарозы в меде, так как характерной особенностью фальсифицированного меда является высокое содержание глюкозы и фруктозы, и низкое содержание сахарозы или полное ее отсутствие.

4.2 Обнаружение поддельных образцов меда, фальсифицируемых сахарными сиропами, методом сравнения изотопного состава углерода меда и экстрагированной из него белковой фракции

Пчелы обычно собирают нектар с растений C₃ типа, поэтому натуральный мед имеет значение изотопного состава углерода примерно от -28‰ до -23‰ (рисунок 42) [202]. Если натуральный мед разбавить сиропом из сахарного тростника или кукурузы (растения C₄ типа), то изотопный состав углерода меда будет обогащен тяжелым изотопом углерода ^{13}C , и величина $\delta^{13}\text{C}$ меда будет выше -23‰ . Поэтому в общемировой практике образцы меда, имеющие величину $\delta^{13}\text{C}$ выше, чем -23‰ , принято считать подозрительными [15]. Для российского рынка меда таким пороговым значением величины $\delta^{13}\text{C}$ можно принять значение -24‰ , основываясь на большом наборе достоверных данных (рисунок 42). Это значение можно принять за критерий фальсификации меда.

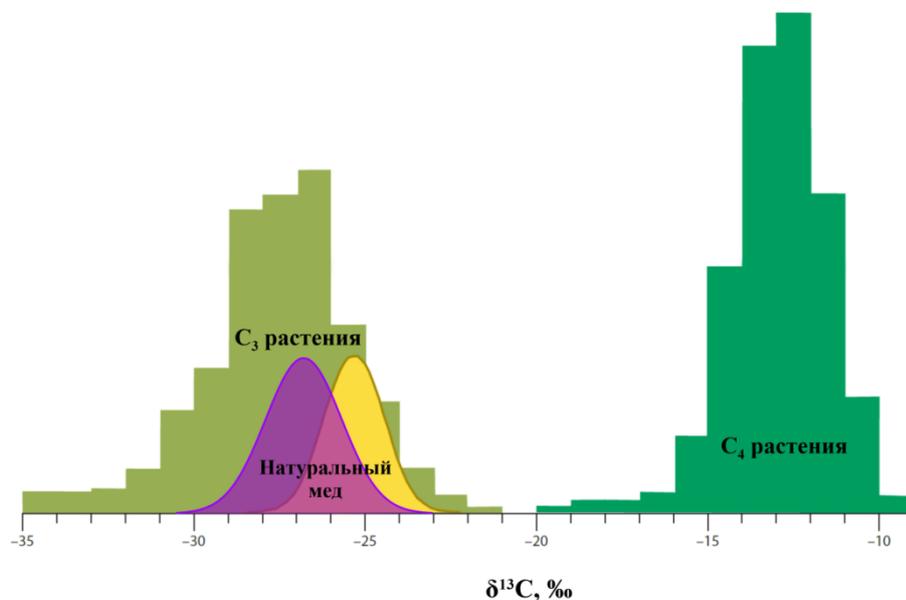


Рисунок 42 – Гистограмма значений величины $\delta^{13}\text{C}$ для растений C₃- и C₄-типов на основе более 1000 изотопных анализов [203]. Желтая область показывает распределение величины $\delta^{13}\text{C}$ образцов натурального меда из США [202], фиолетовая область показывает распределение измеренных значений величины $\delta^{13}\text{C}$ образцов натурального меда России

Согласно принятой за рубежом методике AOAC 998.12-1998 [200] если разница величины $\delta^{13}\text{C}$ между медом и экстрагированной из него белковой фракцией составляет более чем $+1\text{‰}$ или менее чем -1‰ , то принято считать данный образец меда фальсифицированным [132, 204]. Также мед считается фальсифицированным, если процент содержания C-4-сахара (C_{C-4 сахар}) в образце меда $> 7\%$, согласно следующему уравнению:

$$C_{C-4 \text{ сахар}} = \frac{\delta^{13}C_{\text{протеин}} - \delta^{13}C_{\text{мед}}}{\delta^{13}C_{\text{протеин}} - (-9,7)} \times 100, \quad (30)$$

где $\delta^{13}C_{\text{протеин}}$ – значение величины $\delta^{13}C$ для белковой части меда, $\delta^{13}C_{\text{мед}}$ – величина $\delta^{13}C$ для меда, $-9,7$ – среднее значение величины $\delta^{13}C$ для кукурузного сиропа (‰). Кроме того, в 2016 году проведено исследование, в котором доказано, что мед с содержанием C-4 сахара $<-7\%$ также может быть классифицирован как фальсифицированный [205].

Утвердившая данную методику Ассоциация аналитической химии приняла за эталон расчета кукурузный сироп с высоким содержанием фруктозы, получаемый из кукурузного крахмала. Для расширения возможности использования методики расчета предложено заменить эталон (кукурузный сироп) на широко распространенный тростниковый сахар. В связи с этим в формулу (30) при расчете процента содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза, в образцах меда российского рынка целесообразно внести изменение: заменить значение $-9,7\%$ на $-12,6\%$, что соответствует величине $\delta^{13}C$ сиропа, приготовленного из тростникового сахара.

Ввиду введения нового значения формула 30 примет новый вид:

$$C_{C-4 \text{ сахар}}^* = \frac{\delta^{13}C_{\text{протеин}} - \delta^{13}C_{\text{мед}}}{\delta^{13}C_{\text{протеин}} - (-12,6)} \times 100, \quad (31)$$

где $C_{C-4 \text{ сахар}}^*$ – процент содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза, для российского рынка.

С целью выявления поддельного меда, фальсифицируемого сахарами, проведен сравнительный анализ изотопного состава углерода в образцах натурального меда и выделенной из него белковой фракции (протеине). Величина $\delta^{13}C$ образцов меда за весь период исследования изменяется в диапазоне от $-29,5\%$ до $-22,3\%$, а величина $\delta^{13}C$ протеина – от $-30,5\%$ до $-23,9\%$ (таблица 31).

Таблица 31 – Основная статистика величины $\delta^{13}C$ (‰) образцов меда и экстрагированной из него белковой фракции

Образец	Статистические величины						
	<i>n</i>	среднее	медиана	СКО	минимум	максимум	интервал
мед	117	-26,8	-26,9	1,2	-29,5	-22,3	7,2
белковая фракция	115	-26,7	-26,6	1,0	-30,5	-23,9	6,6

Результаты анализа изотопного состава углерода образцов меда и выделенного из него протеина и расчетные величины процента содержания сахара представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Данные величины $\delta^{13}\text{C}$ для меда ($\delta^{13}\text{C}_\text{М}$) и протеина ($\delta^{13}\text{C}_\text{П}$) (‰), процент содержания С-4 сахара (%) (данные выражены в виде среднего значения)

Номер	Место отбора (или характеристика)	$\delta^{13}\text{C}_\text{М}$	$\delta^{13}\text{C}_\text{П}$	$\delta^{13}\text{C}_\text{П} - \delta^{13}\text{C}_\text{М}$	$\text{C}_{\text{C-4 сахар}}$, %	$\text{C}_{\text{C-4 сахар}}^*$, %
1	2	3	4	5	6	7
2016						
	Алтайский край					
1	Красногорский район	-28,9±0,1	-27,9±0,1	1,0	-5,5	-6,5
2	Алтайский район	-29,5±0,2	-28,8±0,1	0,7	-3,7	-4,3
3	Солонешенский район	-27,6±0,1	-26,7±0,1	0,9	-5,3	-6,4
4	Залесовский район	-29,4±0,2	-28,5±0,2	0,9	-4,8	-5,7
	Томская область					
5	Томский район	-26,9±0,2	-26,3±0,2	0,6	-3,6	-4,4
6	Бакчарский район	-27,9±0,1	-26,8±0,2	1,1	-6,4	-7,7
	Башкортостан					
7	(разнотравный)	-26,2±0,2	-25,5±0,1	0,7	-4,4	-5,4
8	(горный)	-26,7±0,1	-26,6±0,1	0,1	-0,6	-0,7
	Пензенская область					
9	Пачелмский район	-26,0±0,1	-25,6±0,2	0,4	-2,5	-3,1
	Приморский край					
10	Михайловский район	-25,6±0,2	-25,5±0,2	0,1	-0,6	-0,8
11	Уссурийский городской округ	-25,0±0,2	-25,9±0,1	-0,9	5,6	6,8
	Краснодарский край					
12	Туапсинский район (липовый)	-25,6±0,2	-25,9±0,2	-0,3	1,9	2,3
13	Туапсинский район (фацелиевый)	-25,9±0,1	-26,3±0,2	-0,4	2,4	2,9
14	Туапсинский район (девясильный)	-26,4±0,1	-27,0±0,1	-0,6	3,5	4,2
15	Туапсинский район (эвкалиптовый)	-25,2±0,2	-26,5±0,1	-1,3	7,7	9,4
	Адыгея					
16	Майкоп (липовый)	-26,1±0,2	-26,4±0,1	-0,3	1,8	2,2
17	Майкоп (разнотравный)	-24,2±0,1	-26,6±0,2	-2,4	14,2	17,1
2019						
	Алтайский край					
1	Красногорский район	-29,0±0,1	-28,9±0,1	0,1	-0,5	-0,6

Продолжение таблицы 32

1	2	3	4	5	6	7
2	Красногорский район	-28,6±0,2	-28,9±0,1	-0,3	1,6	1,8
3	Рубцовский район	-27,0±0,1	-27,2±0,1	-0,2	1,1	1,4
4	Краснощекровский район	-26,5±0,2	-26,6±0,2	-0,1	0,6	0,7
	Томская область					
5	Шегарский район	-27,3±0,2	-27,8±0,2	-0,5	2,8	3,3
6	Асиновский район	-26,7±0,1	-26,6±0,2	0,1	-0,6	-0,7
7	Кожевниковский район	-27,0±0,1	-27,4±0,2	-0,4	2,3	2,7
8	Асиновский район	-27,3±0,1	-26,7±0,1	0,6	-3,5	-4,3
9	Томский район	-26,8±0,2	-27,0±0,2	-0,2	1,2	1,4
10	Томский район	-26,0±0,1	-26,1±0,1	-0,1	0,6	0,7
11	Зырянский район	-26,8±0,2	-26,4±0,1	0,4	-2,4	-2,9
12	Томский район	-25,9±0,2	-26,1±0,2	-0,2	1,2	1,5
13	Колпашевский район	-26,1±0,1	-26,3±0,2	-0,2	1,2	1,5
14	Шегарский район	-26,3±0,2	-26,1±0,1	0,2	-1,2	-1,5
15	Зырянский район	-26,3±0,2	-26,2±0,2	0,1	-0,6	-0,7
	Кемеровская область					
16	Юргинский район	-27,7±0,2	-27,2±0,2	0,5	-2,9	-3,4
17	Прокопьевский район	-26,7±0,2	-25,7±0,2	1	-6,3	-7,6
	Калужская область					
18		-27,8±0,2	-26,9±0,1	0,9	-5,2	-6,3
19	Малоярославецкий район	-24,9±0,1	-24,3±0,1	0,6	-4,1	-5,1
20		-25,6±0,2	-24,9±0,2	0,7	-4,6	-5,7
	Краснодарский край					
21		-24,4±0,1	-24,5±0,2	-0,1	0,7	0,8
22	Туапсинский район	-26,1±0,2	-26,6±0,2	-0,5	3,0	3,6
23		-26,2±0,1	-26,1±0,1	0,1	-0,6	-0,7
2020						
	Алтайский край					
1	Целинный район	-27,2±0,2	-27,0±0,1	0,2	-1,2	-1,4
2	Поспелихинский район	-26,4±0,1	-26,5±0,1	-0,1	0,6	0,7
3	Поспелихинский район	-26,3±0,1	-26,3±0,2	0	0,0	0,0
4	Смоленский район	-28,1±0,2	-27,3±0,1	0,8	-4,5	-5,4
5	Шипуновский район	-27,8±0,1	-26,7±0,1	1,1	-6,5	-7,8

Продолжение таблицы 32

1	2	3	4	5	6	7
6	Советский район	-28,7±0,1	-27,6±0,1	1,1	-6,1	-7,3
7	Солонешенский район	-26,6±0,1	-27,0±0,1	-0,4	2,3	2,8
8	(горный, куплен в Москве)	-22,3±0,2	-24,2±0,2	-1,9	13,1	16,4
	Томская область					
9	Шегарский район	-27,8±0,2	-27,4±0,2	0,4	-2,3	-2,7
10	Асиновский район	-27,6±0,1	-27,9±0,1	-0,3	1,6	2,0
11	Асиновский район	-26,1±0,2	-26,2±0,1	-0,1	0,6	0,7
12	Томский район	-27,3±0,1	-27,0±0,1	0,3	-1,7	-2,1
13	Томский район	-29,0±0,1	-29,1±0,2	-0,1	0,5	0,6
14	Томский район	-25,9±0,1	-25,9±0,1	0	0,0	0,0
15	Томский район	-28,7±0,2	-30,5±±0,2	-1,8	8,7	10,1
16	Томский район	-26,8±0,2	-26,6±0,2	0,2	-1,2	-1,4
17	Томский район	-27,2±0,1	-27,1±0,2	0,1	-0,6	-0,7
18	Шегарский район	-27,3±0,1	-27,1±0,2	0,2	-1,1	-1,4
19	Томский район	-26,3±0,2	-26,5±0,1	-0,2	1,2	1,4
20	Асиновский район	-26,9±0,2	-26,5±0,1	0,4	-2,4	-2,9
21	Томский район	-26,6±0,1	-26,7±0,1	-0,1	0,6	0,7
22	Асиновский район	-27,3±0,2	-27,0±0,1	0,3	-1,7	-2,1
23	Зырянский район	-26,9±0,1	-27,0±0,2	-0,1	0,6	0,7
24	Зырянский район	-26,9±0,1	-26,8±0,2	0,1	-0,6	-0,7
25	Шегарский район	-26,8±0,2	-26,7±0,2	0,1	-0,6	-0,7
26	Шегарский район	-26,4±0,2	-26,4±0,2	0	0,0	0,0
27	Кривошеинский район	-26,7±0,1	-26,9±0,1	-0,2	1,2	1,4
28	Асиновский район	-27,3±0,2	-29,8±0,2	-2,5	12,4	14,5
29	Кривошеинский район	-26,0±0,2	-26,2±0,2	-0,2	1,2	1,5
30	Зырянский район	-27,8±0,1	-27,9±0,1	-0,1	0,5	0,7
31	Зырянский район	-27,1±0,2	-26,9±0,1	0,2	-1,2	-1,4
32	Зырянский район	-26,9±0,1	-27,1±0,1	-0,2	1,1	1,4
33	Молчановский район	-26,9±0,2	-26,0±0,2	0,9	-5,5	-6,7
34	Заречный район	-27,1±0,1	-26,9±0,1	0,2	-1,2	-1,4
35	Томский район	-27,6±0,1	-27,5±0,1	0,1	-0,6	-0,7
	Кемеровская область					
36	Юргинский район	-26,5±0,1	-26,8±0,2	-0,3	1,8	2,1

Продолжение таблицы 32

1	2	3	4	5	6	7
37	Киселевский городской округ	-25,4±0,1	-24,5±0,1	0,9	-6,1	-7,6
38	Прокопьевский район	-27,5±0,2	-26,9±0,1	0,6	-3,5	-4,2
	Калужская область					
39	Мещевский район	-27,3±0,1	-27,5±0,2	-0,2	1,1	1,3
40	Козельский район	-27,4±0,1	-27,7±0,2	-0,3	1,7	2,0
	Приморский край					
41	(липовый)	-26,4±0,2	-26,1±0,2	0,3	-1,8	-2,2
	Новосибирская область					
42	Болотнинский район	-28,2±0,2	-27,5±0,1	0,7	-3,9	-4,7
	Республика Татарстан					
43	Кукморский район	-26,5±0,2	-26,6±0,2	-0,1	0,6	0,7
	Республика Марий Эл					
44	Сернурский район	-26,0±0,1	-26,5±0,2	-0,5	3,0	3,6
	Курская область					
45	Золотухинский район	-27,4±0,1	-27,4±0,2	-0,0	0,0	0,0
	Липецкая область					
46	Верховье Дона	-24,6±0,2	-25,3±0,1	-0,7	4,5	5,5
	Республика Адыгея					
47	Майкопский район	-26,8±0,1	-26,8±0,1	0,0	0,0	0,0
	Пензенская область					
48	Сердобский район	-25,7±0,2	-26,8±0,2	-1,1	6,4	7,7
49	Республика Мордовия	-26,8±0,1	-26,9±0,2	-0,1	0,6	0,7
	Белгородская область					
50	(акациевый)	-25,1±0,1	-26,1±0,2	-1,0	6,1	7,4
51	(липовый)	-24,9±0,2	-26,1±0,2	-1,2	7,3	8,9
52	Республика Крым	-25,2±0,2	-26,3±0,2	-1,1	6,6	8,0
53	Республика Башкортостан	-26,6±0,1	-27,8±0,1	-1,2	6,6	7,9
2021						
	Республика Башкортостан					
1	(разнотравье)	-26,4±0,2	-26,8±0,1	-0,4	2,3	2,8
2	(липа + разнотравье)	-26,1±0,1	-26,3±0,2	-0,2	1,2	1,5
3	(липовый)	-24,8±0,1	-26,0±0,1	-1,2	7,4	9,0

Продолжение таблицы 32

1	2	3	4	5	6	7
	Алтайский край					
4	Красногорский район	-26,9±0,1	-26,5±0,1	0,4	-2,4	-2,9
5	(разнотравье)	-27,2±0,2	-26,6±0,2	0,6	-3,6	-4,3
6	(эспарцетовый)	-27,3±0,2	-25,9±0,2	1,4	-8,6	-10,5
	Томская область					
7	Томский район	-27,7±0,1	-27,2±0,1	0,5	-2,9	-3,4
	Краснодарский край					
8	Новороссийск	-24,4±0,2	-25,0±0,2	-0,6	3,9	4,8
9	Геленджик	-26,4±0,1	-26,0±0,1	0,4	-2,5	-3,0
10	Геленджик	-24,5±0,2	-23,9±0,1	0,6	-4,2	-5,3
2022						
	Алтайский край					
1	(гречиха)	-27,1±0,1	-26,9±0,1	0,2	-1,2	-1,4
2	(горный)	-27,6±0,1	-26,8±0,1	0,8	-4,7	-5,6
3	(разнотравье)	-28,5±0,2	-27,4±0,1	1,1	-6,2	-7,4
4	(горный)	-28,1±0,1	-26,3±0,1	1,8	-10,8	-13,1
5	Алтайский район	-27,3±0,2	-26,8±0,2	0,5	-2,9	-3,5
6	Алтайский район	-28,1±0,1	-26,0±0,1	2,1	-12,9	-15,7
7	Рубцовский район	-27,4±0,1	-26,2±0,1	1,2	-7,3	-8,8
	Республика Бурятия					
8	Мухоршибирский район	-27,9±0,2	-26,5±0,1	1,4	-8,3	-10,1
9	Джидинский район	-27,7±0,1	-26,8±0,1	0,9	-5,3	-6,3
10	Джидинский район	-27,8±0,2	-26,8±0,2	1,0	-5,8	-7,0
11	Бичурский район	-28,5±0,2	-26,5±0,1	2,0	-11,9	-14,4
	Белоруссия					
12	Гродненский район	-24,0±0,2	-24,4±0,1	-0,4	2,7	2,7

Примечание:

Критерии сфальсифицированных образцов:

- 1) величина $\delta^{13}C_M > -24,0\%$;
- 2) $\delta^{13}C_{II} - \delta^{13}C_M > 1\%$ и $< -1\%$ (по АОАС 998.12-1998);
- 3) $\delta^{13}C_{II} - \delta^{13}C_M > 1,3\%$ и $< -1,3\%$ (по рекомендации для российского рынка);
- 4) $C_{C-4 \text{ сахар}} > 7\%$ и $< -7\%$ (по АОАС 998.12-1998); 5) $C^*_{C-4 \text{ сахар}} > 9,1\%$ и $< -9,1\%$.

Значения, выделенные жирным шрифтом, указывают на образцы меда, которые соответствуют критериям фальсификации. Красным выделены образцы меда, которые являются сфальсифицированными по двум критериям.

На рисунке 43 представлен график зависимости рассчитанного по формуле 31 процента содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза, от разницы между величиной $\delta^{13}\text{C}$ протеина и величиной $\delta^{13}\text{C}$ меда. Таким образом, разнице между величиной $\delta^{13}\text{C}$ протеина и величиной $\delta^{13}\text{C}$ меда, равной 1,3‰, по полученному уравнению соответствует 9,1 процент содержания C-4 сахара. Соответственно, образец меда, для которого разница $\delta^{13}\text{C}_{\text{п}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{м}}$ более 1,3‰ и процент содержания C-4 сахара $< -9,1\%$ или $> 9,1\%$, можно классифицировать как фальсифицированный.

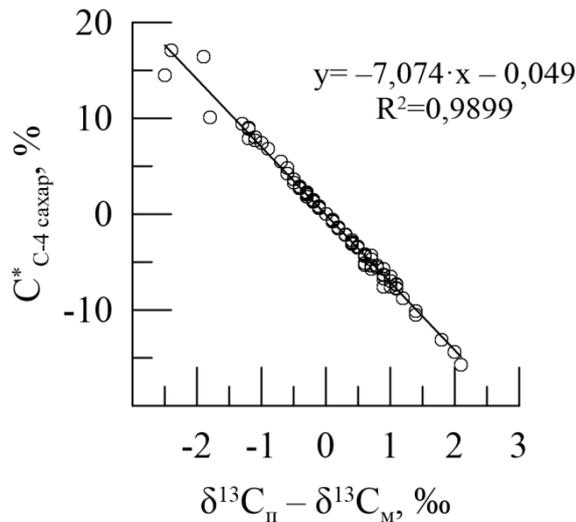


Рисунок 43 – Зависимость процента содержания C4-сахара ($C^*_{\text{C-4 сахар}}$, %) от разницы между величиной $\delta^{13}\text{C}$ протеина и величиной $\delta^{13}\text{C}$ меда для российского рынка меда

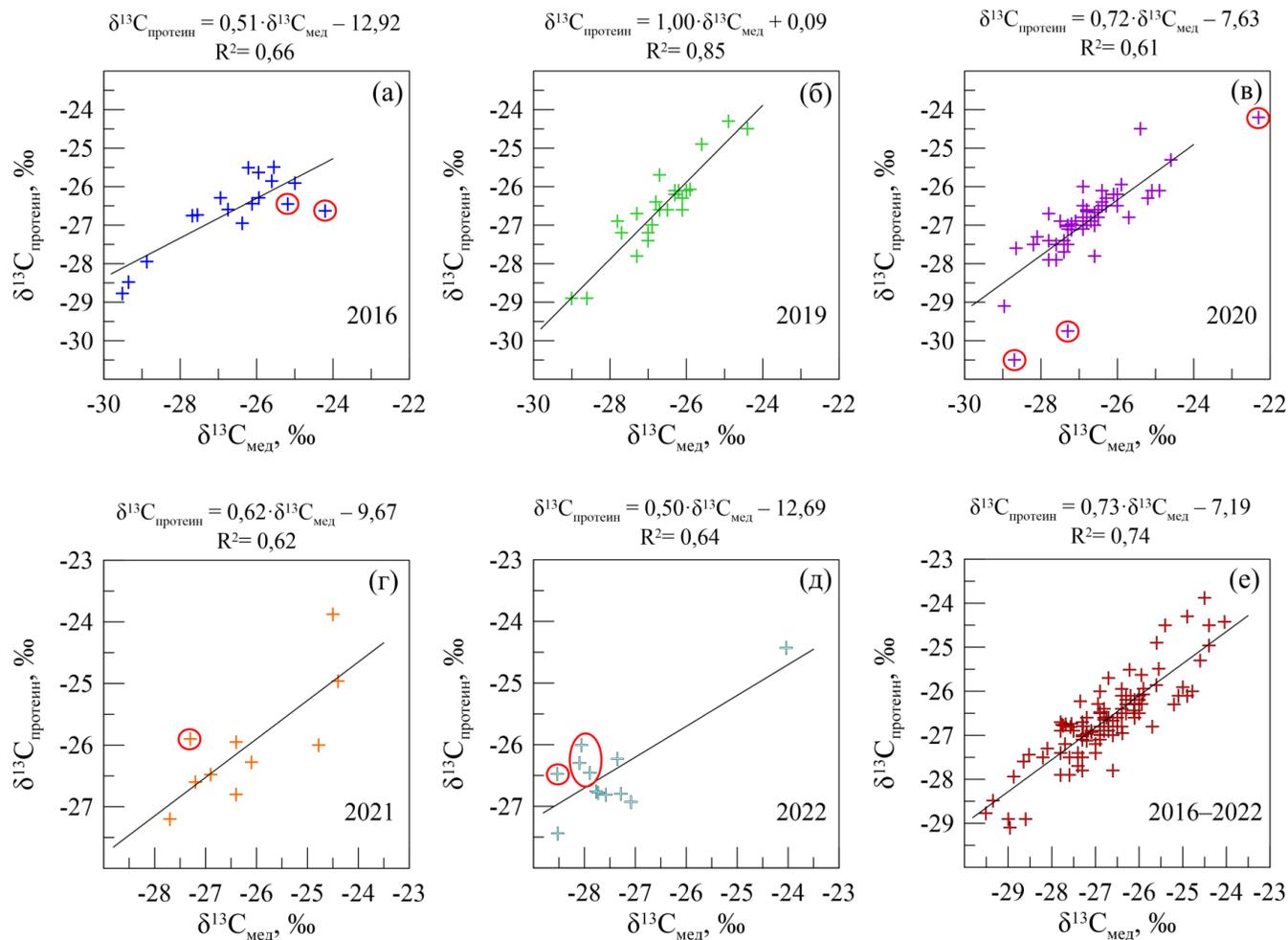
Для образцов 2016 года сбора установлена линейная зависимость между изотопным составом углерода меда и выделенной из него белковой фракции: $\delta^{13}\text{C}_{\text{протеин}} = 0,51 \cdot \delta^{13}\text{C}_{\text{мед}} - 12,92$ ($R^2 = 0,66$) с коэффициентом корреляции 0,81 (рисунок 44 (а)). Значения величины $\delta^{13}\text{C}$ всех образцов меда ниже -24% ; однако разница величин $\delta^{13}\text{C}$ между медом и экстрагированной из него белковой фракцией двух образцов (№№ 15, 17) более чем 1,3‰, процент содержания C4-сахара, рассчитанный по методике АОАС 998.12-1998, в этих образцах равен 7,7 и 14,2%, а по формуле 31 – 9,4 и 17,1% соответственно (таблица 32). Поэтому данные образцы считаются фальсифицированными.

Для образцов 2019 года сбора установлена линейная зависимость между величиной $\delta^{13}\text{C}$ образцов меда и выделенной из него белковой фракции: $\delta^{13}\text{C}_{\text{протеин}} = 1,00 \cdot \delta^{13}\text{C}_{\text{мед}} + 0,09$ ($R^2 = 0,85$) с коэффициентом корреляции 0,92 (рисунок 44 (б)). Коэффициент при величине $\delta^{13}\text{C}_{\text{мед}}$ (наклон) равен 1, и этот результат относительно линейной зависимости аналогичен результатам Luo et al. [206] и H. Dong et al. [205], полученным для неподдельных медов. Значения величины $\delta^{13}\text{C}$ всех образцов меда $< -24\%$; разница величин $\delta^{13}\text{C}$ между медом и экстрагированной из

него белковой фракцией менее 1,3‰ по модулю, рассчитанные значения $C_{C-4сахар}^*$ не выходят за рамки диапазона от $-9,1$ до $+9,1\%$. Таким образом, все образцы меда 2019 года сбора оказались натуральными.

Для образцов 2020 года сбора линейная зависимость имеет следующий вид: $\delta^{13}C_{\text{протеин}} = 0,72 \cdot \delta^{13}C_{\text{мед}} - 7,63$ ($R^2 = 0,61$) с коэффициентом корреляции 0,78 (рисунок 44 (в)). Образцы №№ 8 и 15 вызвали подозрение на стадии визуального осмотра: данные образцы имели низкую вязкость как в момент приобретения, так и спустя пару месяцев – кристаллизация меда, являющаяся важным показателем его качества, не произошла. Образцы №8 и 15 признаны фальсифицированными как по разнице между величинами $\delta^{13}C_{\text{мед}}$ и $\delta^{13}C_{\text{протеин}}$, так и по проценту содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза. Значение величины $\delta^{13}C$ образца меда № 8 оказалось выше -24% . Также для образца №8 рассчитан самый высокий процент содержания C4-сахара – $C_{C-4сахар} = 13,1\%$ и $C_{C-4сахар}^* = 16,4\%$. Образец №8 приобретен в медовом магазине г. Москвы и имеет географическое происхождение Алтайский край (указано на этикетке). Образец №15 (Томский район) приобретен у частного продавца на медовой ярмарке. Для образца меда №28 (Асиновский район, Томская область) разница величин $\delta^{13}C$ между медом и протеином составила 2,5‰, а процент содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза, равен 14,5% (по формуле 15) (таблица 32). Эти два критерия указывают на то, что данный образец поддельный. Интерес представляет тот факт, что образец №28 представляет собой мед в сотах. Предположительно, фальсификация связана с подкармливанием пчел сахарным сиропом.

Для образцов меда 2021 года между изотопным составом углерода меда и выделенной из него белковой фракции получена линейная зависимость: $\delta^{13}C_{\text{протеин}} = 0,62 \cdot \delta^{13}C_{\text{мед}} - 9,67$ ($R^2 = 0,62$) с коэффициентом корреляции 0,78 (рисунок 44 (г)). Значения величины $\delta^{13}C$ всех образцов меда ниже -24% ; однако разница величин $\delta^{13}C$ между медом и экстрагированным из него протеином одного образца (№6) составила более чем 1,3‰, процент содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза, в этом образце равен $-10,5\%$ соответственно (таблица 32). Следовательно, данный образец считается фальсифицированным.



а – 2016 год, б – 2019 год, в – 2020 год, г – 2021 год, д – 2022 год, е – все образцы за исключением фальсифицированных образцов

Рисунок 44 – Зависимость изотопного состава углерода в образцах меда от изотопного состава углерода экстрагированного из меда протеина

Для образцов 2022 года между величинами $\delta^{13}\text{C}$ меда и выделенной из него белковой фракции установлена линейная зависимость: $\delta^{13}\text{C}_{\text{протеин}} = 0,50 \cdot \delta^{13}\text{C}_{\text{мед}} - 12,69$ ($R^2 = 0,64$) с коэффициентом корреляции 0,80 (рисунок 44 (д)). Из 12 образцов 4 оказались сфальсифицированными. Для образцов №№ 4, 6, 8 и 11 разница величин $\delta^{13}\text{C}$ между медом и его белковой фракцией составила более 1,3%. Процент содержания С4 сахара, рассчитанный по формуле 31, для этих образцов показал значения ниже $-9,1\%$, что подтверждает факт фальсификации. Стоит заметить, что для всех образцов разница между величинами $\delta^{13}\text{C}$ меда и протеина отрицательная, также как и процент содержания сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза. Возможно, такие значения получены вследствие не соблюдения условий хранения меда (образцы приобретены в январе-феврале 2022 года).

Таким образом, во всей выборке образцов меда ($n=115$) согласно критериям фальсификации меда для российского рынка обнаружено 10 фальсифицированных образцов: 2 образца в 2016 году, 3 образца в 2020 году, 1 образец в 2021 году и 4 образца в 2022 году. Среди всех образцов меда выделяется №8 в 2020 году, который приобретен в медовой лавке г. Москва. Данный образец меда удовлетворяет всем трем критериям фальсификации.

Если из расчета исключить данные по фальсифицированным образцам меда, то линейная зависимость между изотопным составом углерода меда и изотопным составом углерода выделенной из меда белковой фракции имеет следующий вид: $\delta^{13}\text{C}_{\text{протеин}} = 0,73 \cdot \delta^{13}\text{C}_{\text{мед}} - 7,19$ ($R^2 = 0,74$) с коэффициентом корреляции 0,86 (рисунок 44 (е)).

Таким образом, введены новые критерии фальсификации меда, адаптированные для российского рынка, модифицирована официально утвержденная формула расчета процента содержания сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза. Данное изменение в формуле позволило более точно устанавливать факт фальсификации меда: использование измененной формулы позволило определить контрафактность для тех образцов меда, которые по официальной методике считались неподдельными. Если сравнивать между собой величины процента содержания С4 сахара, посчитанные по формулам 30 (по методике АОАС 998.12-1998) и 31 (наше исследование), то величина процента содержания С4 сахара в нашем случае показывает больший процент содержания сахара.

Практическая значимость предложенных рекомендаций подтверждена актами внедрения результатов диссертационной работы, полученными от ООО «МС-Аналитика» (приложение Б) и ООО «Городской супермаркет» (приложение В).

Заключение

По результатам исследования можно сделать следующие **выводы**:

1. Анализ литературных данных по разным регионам Земли показал, что для оценки географического происхождения наибольшей индикаторной значимостью обладают изотопные сигнатуры: для воска – δD , $\delta^{18}O$, для подмора пчел – δD , $\delta^{18}O$, для пыльцевой обножки – $\delta^{13}C$, δD , $\delta^{18}O$, для меда – $\delta^{13}C$, δD , $\delta^{18}O$, для белковой фракции меда – δD , $\delta^{18}O$; для определения натуральности состава – изотопные сигнатуры ($\delta^{13}C$) меда и его белковой фракции.

2. Диапазоны оригинальных изотопных сигнатур для восков разных регионов России широко варьируют (величина $\delta^{13}C$ – от $-30,3$ до $-27,4\%$; величина δD – от $-308,6$ до $-202,3\%$; величина $\delta^{18}O$ – от $-70,8$ до $-24,0\%$) и сходны с данными из Северной Америки и Германии.

3. Изотопные сигнатуры для прополиса из разных регионов России (величина $\delta^{13}C$ – от $-28,5$ до $-24,4\%$; величина $\delta^{15}N$ – от $+0,4$ до $+11,2\%$) имеют низкую индикаторную значимость, так как сложный состав затрудняет интерпретации данных.

4. Изотопные сигнатуры водорода и кислорода (величина δD – от $-140,4$ до $-75,8\%$; величина $\delta^{18}O$ – от $-3,2$ до $+12,5\%$) в подморе пчел различаются в разных регионах России в отличие от изотопов углерода и азота (величина $\delta^{13}C$ – от $-28,1$ до $-25,1\%$; величина $\delta^{15}N$ – от $+2,7$ до $+9,8\%$). Диапазоны вариаций изотопных сигнатур подмора пчел в целом сходны с опубликованными данными по другим регионам Земли.

5. Изотопные сигнатуры для пыльцевой обножки варьируют в следующих диапазонах: величина $\delta^{13}C$ – от $-31,2$ до $-24,3\%$; величина $\delta^{15}N$ – от $-2,8$ до $+8,5\%$; величина δD – от $-124,9$ до $-47,2\%$; величина $\delta^{18}O$ – от $+11,1$ до $+26,6\%$. Наибольшую индикаторную значимость изотопные сигнатуры пыльцевой обножки показали в сравнительном анализе с медом – для оценки локальных условий мест производства. Выявлена зависимость содержания тяжелого изотопа азота от локальных условий мест кормодобычи медоносных пчел (наиболее вероятно, по причине усиленной аккумуляции азотсодержащих соединений отдельными видами медоносных растений).

6. Диапазоны оригинальных изотопных сигнатур меда разных регионов России широко варьируют (величина $\delta^{13}C$ – от $-29,5$ до $-22,3\%$; величина $\delta^{15}N$ – от $-1,0$ до $+12,0\%$; величина δD – от $-126,2$ до $+4,2\%$; величина $\delta^{18}O$ – от $+12,7$ до $+26,0\%$). При сравнении с общемировыми данными наибольшее сходство наблюдается для регионов с похожими климатическими условиями.

7. Пространственное распределение изотопных сигнатур O, N и C в меде показало, что: низкие значения величин изотопного состава меда характерны для регионов Сибири ($\delta^{13}C$: от

–30 до –25‰, δD : от –130 до –40‰ и $\delta^{18}O$: от +12 до +22‰), средние значения – для образцов меда европейской части России ($\delta^{13}C$: от –28 до –24‰, δD : от –80 до –40‰ и $\delta^{18}O$: от +16 до +28‰), высокие – для черноморского региона ($\delta^{13}C$: от –27 до –24‰, δD : от –80 до 0‰ и $\delta^{18}O$: от +20 до +28‰). Это подтверждается высоким уровнем корреляции между величинами δD и $\delta^{18}O$ меда и метеорных вод регионов происхождения (0,93 для изотопного состава водорода и 0,86 – для кислорода).

8. Экспериментально установлено, что для образцов натурального российского меда верхний предел значений величины $\delta^{13}C$ не превышает –24‰. В случае, когда величина $\delta^{13}C$ меда ниже –24‰, для выявления факта разбавления меда сиропом из тростникового сахара необходимо сравнить величину $\delta^{13}C$ меда с величиной $\delta^{13}C$ белковой фракции меда. Если разница между величиной $\delta^{13}C$ протеина и величиной $\delta^{13}C$ меда более 1,3‰ и процента содержания С4-сахара, рассчитанный по предложенной в нашем исследовании формуле, более 9,1% по модулю, то образец меда можно считать разбавленным.

9. Апробация критериев выявления факта разбавления меда сиропом из тростникового сахара, предложенных для российского рынка, показала, что во всей выборке образцов меда ($n=115$) обнаружено 10 фальсифицированных образцов меда с рассчитанным процентом содержания С4-сахара до 17,1%.

10. Разработаны рекомендации к масс-спектрометрическому исследованию изотопного состава водорода $^2H/^1H$, углерода $^{13}C/^12C$, кислорода $^{18}O/^16O$ и азота $^{15}N/^14N$ в продуктах пчеловодства (воск, прополис, подмор пчел, пыльцевая обножка, мед и его белковая фракция), включающие предварительную метрологическую оценку точности измерений, способы подготовки проб, условия проведения измерений и интерпретацию результатов.

11. На заключительной стадии аттестации находится разработанная на основе исследуемых образцов меда методика «Методика измерений отношений стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в меде» во Всероссийском научно-исследовательском институте метрологии им. Д.И. Менделеева.

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность научному руководителю кандидату технических наук, доценту ТГУ, ведущему научному сотруднику ИМКЭС СО РАН Галине Владимировне Симоновой за конструктивные замечания, ценные указания, помощь в приобретении образцов, пробоподготовке, за проведение ряда анализов. Автор также признателен за помощь ООО «МС-АНАЛИТИКА» в лице В.С. Файнберга за консультации при выполнении анализов и за предоставленные стандартные образцы меда для построения калибровочных графиков и ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева» в лице старшего научного сотрудника научно-исследовательского отдела госэталонов в области физико-химических измерений Чубченко Я. К. за консультации по метрологической оценке методики. Автор благодарит центр коллективного пользования ТомЦКП СО РАН за предоставленные приборы: изотопный масс-спектрометр DELTA V Advantage и элементный анализатор Flash 2000, также автор выражает благодарность НПО «Унитех» в лице Кагирова А.Г. за предоставленный микроскоп. Автор выражает искреннюю признательность членам семьи за помощь и моральную поддержку на всех этапах работы.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90016 и базового проекта ИМКЭС СО РАН № FWRG-2021-0001.

Список используемых сокращений и условных обозначений

$\delta^{13}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) – величина изотопного состава углерода

δD ($\delta\text{D}_{\text{VSMOW}}$) – значение изотопного состава водорода

$\delta^{18}\text{O}$ ($\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$) – величина изотопного состава кислорода

$\delta^{15}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{N}_{\text{AirN}_2}$) – величина изотопного состава азота

МАГАТЭ – Международное агентство по атомной энергии

ГМФ – гидроксиметилфурфураль

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

IRMS – масс-спектрометрия изотопных отношений

ГХ – газовая хроматография

КИЭ – кинетический изотопный эффект

SMOW – стандартная средняя вода океана

GMWL – Global Meteoric Water Line (глобальная линия метеорных вод)

USGS – United States Geological Survey – Геологическая служба США

СКО – среднеквадратичное отклонение

VPDB – Vienna PeeDee Belemnite – венский эквивалент карбоната кальция окаменелости *Belemnitella americana*

VSMOW – Vienna-Standard Mean Ocean Water – венский эквивалент «усредненной океанической воды»

ОК – образец для контроля

u_A – стандартная неопределенность по типу А

u_B – стандартная неопределенность по типу В

U – абсолютная расширенная неопределенность

R^2 – коэффициент детерминации

r – коэффициент корреляции

$\text{C}_{\text{C-4 сахар}}$ – процент содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза, рассчитанный согласно АОАС 998.12-1998

$\text{C}_{\text{C-4сахар}}^*$ – процент содержания сахара, полученного из растений с C4 типом фотосинтеза, для российского рынка

$\delta^{13}\text{C}_M$ – величина $\delta^{13}\text{C}$ меда

$\delta^{13}\text{C}_P$ – величина $\delta^{13}\text{C}$ протеина меда

Список литературы

1. Isotopic and elemental composition of selected types of Italian honey / L. Bontempo [et al.]. // *Measurement*. – 2017. – Vol. 98. – P. 283-289.
2. Carbon and nitrogen natural stable isotopes in Slovene honey: Adulteration and botanical and geographical aspects / U. Kropf [et al.]. // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – Vol. 58. – P. 12794-12803.
3. Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey / U. Kropf, M. Korosec, J. Bertonec [et al.]. // *Food Chemistry*. – 2010. – Vol. 121. – P. 839-846.
4. Malec-Czechowska, K. A study of stable isotope composition of chosen foodstuffs from the Polish market / K. Malec-Czechowska, R. Wierzchnicki // *Nukleonika*. – 2013. – Vol. 58, № 2. – P. 323-327.
5. Measurement of carbon isotope ratios of honey samples from Turkey by EA-IRMS / P. K. Yücel, H. Güçlüa, Y. Merta [et al.]. // XXXXIII International Apicultural Congress 29 September – 04 October 2013.
6. Antimicrobial properties and isotope investigations of South African honey / F. Khan [et al.]. // *Journal of Applied Microbiology*. – 2014. – Vol. 117. – P. 366-379.
7. The isotopic variability of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in the protein of Brazilian honey / E.M.R. Romero-Arauco [et al.]. // *Braz. J. Food Technol.* – 2008. – Vol. 11. – P. 190-193.
8. Veiga, S.J. Detecção de adulteração e determinação da origem geográfica de méis de abelhas sem ferrão do Brasil utilizando a razão isotópica do C, H, O e N : Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de mestre / Silvia Janine Veiga. – Botucato, 2017. – 67 p.
9. Rogers, K. M. Eliminating false positive C4 sugar tests on New Zealand Manuka honey / K. M. Rogers // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2010. – Vol. 24. – P. 2370-2374.
10. A Study on Stable Isotope Ratio of Circulated Honey in Korea / Y.-J. Cho [et al.]. // *Korean J. Food Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 44, № 4. – P. 401-410.
11. Cengiz, M. F. In-house validation for the determination of honey adulteration with plant sugars (C4) by Isotope Ratio Mass Spectrometry (IR-MS) / M.F. Cengiz, M. Z. Durak, M. Ozturk // *Food Science and Technology*. – 2014. – Vol. 57. – P. 9-15.
12. Çınar, S. B. Carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of pine honey and detection of HFCS adulteration / S. B. Çınar, A. Eksi, I. Coskun // *Food Chemistry*. – 2014. – Vol. 157. – P. 10-13.

13. Kracht, O. Detection of Honey Adulteration with FlashEA Elemental Analyzer and DELTA V Isotope Ratio Mass Spectrometer / O. Kracht, A. Hilkert // *Application Note*: 30177. – 2013.
14. Tosun, M. Detection of adulteration in honey samples added various sugar syrups with $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio analysis method // *Food Chemistry*. – 2013. – Vol. 138. – P. 1629-1632.
15. Authenticity and geographic origin of global honeys determined using carbon isotope ratios and trace elements / X. Zhou [et al.]. // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – 14639.
16. Novel inspection of sugar residue and origin in honey based on the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio and protein content / C.T. Chen, B.Y. Chen, Y.Sh. Nai [et al.]. // *Journal of Food and Drug Analysis*. – 2019. – Vol. 27, № 1. – P. 175-183.
17. Urbanization effects on wild bee carbon and nitrogen stable isotope ratios in the Paris region / A. Rankovic, B. Geslinc, A. Perrard [et al.]. // *Acta Oecologica*. – 2020. – Vol. 105. – 103545.
18. Stable nitrogen and carbon isotope ratios in wild native honeybees: the influence of land use and climate / H. Taki, H. Ikeda, T. Nagamitsu [et al.]. // *Biodivers Conserv*. – 2017. – Vol. 26. – P. 3157-3166.
19. $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios of amino acids as a tool for studying terrestrial food webs: a case study of terrestrial insects (bees, wasps, and hornets) / Y. Chikaraishi, N. Ogawa, H. Doi [et al.]. // *Ecol. Res*. – 2011. – Vol. 26. – P. 835-844.
20. Hyodo, F. Use of stable carbon and nitrogen isotopes in insect trophic ecology / F. Hyodo // *Entomological Science*. – 2015. – Vol. 18. – P. 295-312.
21. B-HIVE: Beeswax hydrogen isotopes as validation of environment. Part I: Bulk honey and honeycomb stable isotope analysis / L.A. Chesson, B.J. Tipple, B.R. Erkkila [et al.]. // *Food Chemistry*. – 2011. – Vol. 125. – P. 576-581.
22. Jahren, A.H. The carbon stable isotope composition of pollen / A.H. Jahren // *Review of Palaeobotany and Palynology*. – 2004. – Vol. 132. – P. 291-313.
23. Stable carbon isotope analysis of *Cedrus atlantica* pollen as an indicator of moisture availability / B.A. Bell, W.J. Fletcher, P. Ryan [et al.]. // *Review of Palaeobotany and Palynology*. – 2017. – Vol. 244. – P. 128-139.
24. Применение изотопной масс-спектрометрии для выявления фактов фальсификации и определения места происхождения продуктов пчеловодства / А. Г. Талибова, В.С. Файнберг, М.Г. Ганин [и др.]. // *Аналитика*. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 202-207.
25. Талибова, А.Г. Оценка качества и безопасности пищевой продукции методом изотопной масс-спектрометрии / А. Г. Талибова, А. Колеснов // *Аналитика*. – 2011. – № 1. – С. 44-48.

26. Российская Федерация. Указ Президента РФ Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации : [принят Президентом Российской Федерации 21 января 2020 года]. – Москва, 2020. – 12 с. – Текст : непосредственный.
27. Симонова, Г.В. ¹³C изотопный анализ медоносных пчел и продуктов пчеловодства: применение и значимость / Г.В. Симонова, Д.А. Калашникова // Химия в интересах устойчивого развития. – 2022. – № 2. – С. 208-221.
28. Позняковский, В.М. Гигиенические основы питания, качество и безопасность пищевых продуктов: учебник / В.М. Позняковский. – Сибирское университетское издательство, 2007. – 456 с.
29. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды / А.Т. Лебедев. – Москва: Техносфера, 2013. – 632 с.
30. Krueger, H. W. Carbon isotope analyses in food technology / H.W. Krueger, R.H. Reesman // Mass Spectrom. Rev. – 1982. – № 1. – P. 205-236.
31. Gremaud, G., Hilkert, A. Isotopic-Spectroscopic Technique: Stable Isotopic Ratio Mass Spectrometry (IRMS) / Modern Techniques for Food Authentication / Ed. Da-Wen Sun. – Elsevier, 2008. – P. 269-312.
32. Международное агентство по атомной энергии : сайт. – Vienna, Austria, 1998–2022. – URL: <https://www.iaea.org/ru/newscenter/pressreleases/novyuy-proekt-magate-pomogaet-stranam-borotsya-s-falsifikaciey-produktov-pitaniya> (дата обращения: 16.05.2021). – Текст: электронный.
33. Чернигов, В.Д. Мед / В.Д. Чернигов. – Мн.: Ураджай, 1979. – 79 с.
34. Аринкина, А.И. Химический состав и свойства пчелиного меда и их изменение после нагревания / А.И. Аринкина. – М.: ЦИНТИ Пищепром, 1971. – 178 с.
35. Modified sugar adulteration test applied to New Zealand honey / R. Frew, K. McComb, L. Croudis [et al.]. // Food Chemistry. – 2013. – V. 141. – P. 4127-4131.
36. Выявление фальсификации меда сахарными сиропами методом масс-спектрометрии стабильных изотопов / О.В. Ветрова, Д.А. Калашникова, Г.В. Симонова [и др.]. // Жур. аналит. химии. – 2017. – Т. 72, № 7. – С. 645-649.
37. Эвершед, Р., Темпл, Н. Как нас обманывают производители продуктов питания / Р. Эвершед, Н. Темпл. – ООО «Альпина Паблишер», 2017. – 420 с.
38. Ayton, J. Review of chemistry associated with honey / J. Ayton, P. Prenzler, H. Raman, A. Warren-Smith, R. Meyer // Australian Federal Government AgriFutures Australia. – 2019. – Publication No. 19-031.

39. A Review on Analytical Methods for Honey Classification, Identification and Authentication / N. L. Chin, K. Sowndhararajan // *Honey Analysis - New Advances and Challenges*. – 2020.
40. Honey authenticity: the opacity of analytical reports - part 1 defining the problem / M. J. Walker, S. Cowen, K. Gray, P. Hancock, D. T. Burns // *NPJ Science of Food*. – 2022. – Vol. 6:11.
41. European Commission, 2018, Technical Round Table on Honey Authentication, JRC-Geel, Belgium, 25 January 2018, Meeting Report March 2018. – URL: https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/ares181569074-1_technical_round_table_on_honey_adulteration_report.pdf (дата обращения: 24.05.2022).
42. ГОСТ 19792-2017. Мед натуральный. Технические условия : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2017 г. N 1715-ст : введен впервые : дата введения 2019-01-01 / разработан Федеральным государственным бюджетным научным учреждением "Научно-исследовательский институт пчеловодства" (ФГБНУ "НИИ пчеловодства") и Обществом с ограниченной ответственностью "Аналитический центр Апис". – Москва : Стандартинформ, 2017. – 12 с. – 44 экз. – Текст : непосредственный.
43. ГОСТ 31766-2012. Меды монофлорные. Технические условия = Monofloric honeys. Specifications : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. N 1663-ст : введен впервые : дата введения 2013-07-01 / разработан Государственным научным учреждением Научно-исследовательским институтом пчеловодства Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ НИИП Россельхозакадемии). – Москва : Стандартинформ, 2019. – 8 с. – Текст : непосредственный.
44. ГОСТ 34232-2017. Мед. Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимых веществ = Honey. Methods for determination of sucrase activity, of diastase activity, of insoluble matters : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2017 г. N 1716-ст : введен впервые : дата введения 2019-01-01 / разработан Обществом с ограниченной ответственностью Центр исследований и сертификации "Федерал" (ООО Центр "Федерал"). – Москва : Стандартинформ, 2017. – 19 с. – 35 экз. – Текст : непосредственный.
45. ГОСТ 32169-2013 Мед. Метод определения водородного показателя и свободной кислотности = Honey. Method determination of pH and free acidity : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 сентября 2013 г. N 1070-ст :

введен впервые : дата введения 2014-01-01 / разработан Государственным научным учреждением "Научно-исследовательский институт пчеловодства" Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ "НИИ пчеловодства" Россельхозакадемии) и Обществом с ограниченной ответственностью "Аналитический центр "Апис". – Москва : Стандартиформ, 2019. – 8 с. – Текст : непосредственный.

46. ГОСТ 32167-2013. Мед. Метод определения сахаров = Honey. Method for determination of sugars : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 сентября 2013 г. N 1072-ст : введен впервые : дата введения 2014-01-01 / разработан Обществом с ограниченной ответственностью Центр исследований и сертификации "Федерал" (ООО Центр "Федерал"). – Москва : Стандартиформ, 2018. – 12 с. – Текст : непосредственный.

47. ГОСТ 31768-2012. Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала = Natural honey. Methods for determination of hydroxymethylfurfural : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. N 1664-ст : введен впервые : дата введения 2013-07-01 / разработан Государственным научным учреждением "Научно-исследовательский институт пчеловодства" Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ "НИИП" Россельхозакадемии) и Обществом с ограниченной ответственностью "Аналитический центр Апис". – Москва : Стандартиформ, 2019. – 14 с. – Текст : непосредственный.

48. ГОСТ 32168-2013 Мед. Метод определения падевого меда = Honey. Method for the determination of honeydew honey : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 сентября 2013 г. N 1071-ст : введен впервые : дата введения 2014-01-01 / разработан Государственным научным учреждением "Научно-исследовательский институт пчеловодства" Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ "НИИ пчеловодства" Россельхозакадемии) и Обществом с ограниченной ответственностью "Аналитический центр "Апис". – Москва : Стандартиформ, 2019. – 8 с. – Текст : непосредственный.

49. ГОСТ 31769-2012. Мед. Метод определения частоты встречаемости пыльцевых зерен = Honey. Determination of the relative frequency of pollen : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. N 1649-ст : введен впервые : дата введения 2013-07-01 / разработан Рабочей группой, состоящей из представителей

Общества с ограниченной ответственностью "Тенториум" и Общества с ограниченной ответственностью "Центр исследований и сертификации "Федерал". – Москва : Стандартиформ, 2019. – 12 с. – Текст : непосредственный.

50. ГОСТ 31770-2012 Мед. Метод определения электропроводности = Honey. Method for determination of electroconductivity : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. N 1623-ст : введен впервые : дата введения 2013-07-01 / разработан Рабочей группой, состоящей из представителей Государственного научного учреждения "Научно-исследовательского института пчеловодства" Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ НИИП Россельхозакадемии) и Общества с ограниченной ответственностью Центр исследований и сертификации "Федерал" (ООО Центр "Федерал"). – Москва : Стандартиформ, 2014. – 8 с. – Текст : непосредственный.

51. ГОСТ 31774-2012. Мед. Рефрактометрический метод определения воды = Honey. Refractometric method for determination of water : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. N 1662-ст : введен впервые : дата введения 2013-07-01 / разработан Государственным научным учреждением Научно-исследовательским институтом пчеловодства Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ НИИП Россельхозакадемии) и Обществом с ограниченной ответственностью "Аналитический центр Апис". – Москва : Стандартиформ, 2018. – 7 с. – Текст : непосредственный.

52. ГОСТ 34820-2021 Мед натуральный. Метод определения остаточных количеств антибактериальных, антипаразитарных, противогрибковых препаратов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором = Natural honey. Method of determination of residual amounts of antibacterial, antiparasitic, antifungal drugs using high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detector : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 февраля 2022 г. N 88-ст : введен впервые : дата введения 2022-06-15 / разработан Федеральным государственным бюджетным учреждением "Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов" (ФГБУ "ВГНКИ"). – Москва : Российский институт стандартизации, 2022. – 13 с. – Текст : непосредственный.

53. ГОСТ 34821-2021 Мед натуральный. Определение содержания глюфосината, глифосата и его метаболита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения = Natural honey.

Determination of the content of glyphosinate, glyphosate and its metabolite by high-performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry high resolution detector : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 февраля 2022 г. N 89-ст : введен впервые : дата введения 2022-06-15 / разработан Федеральным государственным бюджетным учреждением "Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов" (ФГБУ "ВГНКИ"). – Москва : Российский институт стандартизации, 2022. – 14 с. – Текст : непосредственный.

54. Полтавский мед : сайт. – Полтава, 2003–2022. – URL: http://beehoney.com.ua/honey_organoleptic.html (дата обращения: 21.11.2021). – Текст : электронный.

55. Молодежь и наука : сайт. – Екатеринбург, 2013–2022. – URL: http://min.usasa.ru/uploads/article/attachment/4507/Бурцева_2.pdf (дата обращения: 15.03.2022). – Текст: электронный.

56. Заикина, В. И. Экспертиза меда и способы обнаружения его фальсификации: Учебное пособие / В. И. Заикина. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Издательско торговая корпорация «Дашков и К^о», 2012. — 168 с.

57. Honey authenticity: the opacity of analytical reports - part 2, forensic evaluative reporting as a potential solution / M.J. Walker, S. Cowen, K. Gray [et al.]. // NPJ Sci Food. – 2022. – Vol. 6:11.

58. García, N. L. The current situation on the international honey market / N. L. García // Bee World. – 2018. – Vol. 95. – P. 89-94.

59. Jamin K.-P. R. E.. Honey / K.-P. R. E. Jamin, M. Lees // in Food Integrity Handbook A Guide to Food Authenticity Issues and Analytical Solutions. – Eds: Jean-François Morin & Michèle Lees, – 2018. – P. 42–60.

60. Базарбаев, С.Б. Контроль безопасности меда и продуктов пчеловодства в Российской Федерации / Базарбаев С.Б., Белоусов В.И. // Сборник «Состояние и перспективы развития среднерусской породы пчел». Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – 2018. – С. 62-64

61. Российская Федерация. Законы. О техническом регулировании : Федеральный закон № 184-ФЗ : [принят Государственной думой 27 декабря 2002 года]. – Москва, 2022. – 80 с. – ISBN 978-5-900080-47-5. – Текст : непосредственный.

62. Detection techniques for adulterants in honey: Challenges and recent trends / K. W. Se, R. A. Wahab, S. N. S. Yaacob [et al.]. // J. Food Composition Anal. – 2019. – Vol. 80. – P. 16-32.

63. Honey authenticity: analytical techniques, state of the art and challenges / A. S. Tsagkaris, G. A. Koulis, G. P. Danezis [et al.]. // *RSC Advances*. – 2021. – Vol. 11. – P. 11273-11294.
64. Kilpinen, O. New Analytical Methods against Honey Fraud Are Problematic for Commercial Beekeepers / O. Kilpinen, F. Vejsnæs // *Bee World*. – 2021. – Vol. 98(1). – P. 14–16.
65. An overview of physicochemical characteristics and healthpromoting properties of honeydew honey / S. K. T.Seraglio, B. Silva, G. Bergamo [et al.]. // *Food Res. Int.* – 2019. – Vol. 119. – P. 44-66.
66. The Validity of Protein in Australian Honey as an Internal Standard for C4 Sugar Adulteration / S. Chowdhury, J. Carter, S. Anuj [et al.]. // *Food Anal. Methods*. – 2021. – Vol. 14. – P. 823-833.
67. Lessons learned from inter-laboratory studies of carbon isotope analysis of honey / P. Dunn, S. Hill, S. Cowen [et al.]. // *Sci. Justice*. – 2019. – Vol. 59. – P. 9-19.
68. An investigative study on discrimination of honey of various floral and geographical origins using UPLC-QToF MS and multivariate data analysis / Z. Jandrić, R. D. Frew, L. N. Fernandez-Cedi [et al.]. // *Food Control*. – 2017. – Vol. 72. – P. 189-197.
69. NMR carbohydrate profile in tracing acacia honey authenticity / E. Schievano, M. Sbrizza, V. Zuccato [et al.]. // *Food Chem.* – 2020. – Vol. 309. –125788.
70. Moore, V. Forensic DNA–criminal and paternity methods and applications–how can this help in verifying food authenticity? – In *DNA Techniques to Verify Food Authenticity*. (eds. Burns, M., Foster L. & Walker M. J.). – 2019. –P. 12–28.
71. Геоэкологическая оценка территории и реабилитация: учебное пособие / под ред. Н. Г. Курамшиной; [Н.Г. Курамшина и др.] : [Электронный ресурс] / Уфимск. гос. авиац. техн. ун-т. – Уфа : УГАТУ, 2021. – URL: https://www.ugatu.su/media/uploads/MainSite/Ob%20universitete/Izdateli/El_izd/2021-33.pdf (дата обращения: 20.02.2022). – Текст : электронный.
72. Тиунов, А.В. Стабильные изотопы углерода и азота в почвенно-экологических исследованиях / А.В. Тиунов // *Известия Российской Академии Наук. Серия Биологическая*. – 2007. – № 4. – С. 475-489.
73. Alexandre, P. *Isotopes and the Natural Environment* / P. Alexandre. – Springer Nature Switzerland AG, 2020. – 99 p.
74. Hoefs, J. *Stable Isotope Geochemistry. Sixth Edition* / J. Hoefs. – Springer, 2009. – 293 p.
75. Craig, H. The geochemistry of the stable carbon isotopes / H. Craig // *Geochim. Cosmochim. Acta*. – 1953. – Vol. 3, Is. 2-3. – P. 53-92.

76. Craig, H. Carbon-13 in plants and the relationships between carbon-13 and carbon-14 variations in nature / H. Craig // *J. Geol.* – 1954. – Vol. 62. – P. 115-149.
77. Wickman, F.E. Variations in the relative abundance of the carbon isotopes in plants / F.E. Wickman // *Geochim. Cosmochim. Acta.* – 1952. – Vol.2, Is. 4. – P. 243-254.
78. Baertschi, P. Die Fraktionierung der natürlichen Kohlenstoffisotopen im Kohlendioxydstoffwechsel grüner Pflanzen / P. Baertschi // *Helvetica Chimica Acta.* – 1953. – Vol. 36 № 4. – P. 773-781.
79. O’Leary, M. H. Carbon isotope fractionation in plants / M.H. O’Leary // *Phytochemistry.* – 1981. – Vol. 20, № 4. – P. 553-567.
80. Park, R. Carbon isotope fractionation during photosynthesis / R. Park, S. Epstein // *Geochim Cosmochim Acta.* – 1960. – Vol. 21. – P. 110-126.
81. Förstel, H. The natural fingerprint of stable isotopes-use of IRMS to test food authenticity / H. Förstel // *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* – 2007. – Vol. 388. – P. 541-544.
82. O’Leary, M. H. Physical and chemical basis of carbon isotope fractionation in plants / M. H. O’Leary, S. Madhavan, P. Paneth // *Plant, Cell and Environment.* – 1992. – Vol. 15. – P. 1099-1104.
83. Presence of C4 sugars in honey samples detected by the carbon isotope ratio measured by IRMS / G. J. Padovan, L.P. Rodrigues, I.A. Leme [et al.]. // *Eurasian Journal of Analytical Chemistry.* – 2007. – Vol. 2, № 3. – P. 134-141.
84. Ивлев, А.А. Распределение ^{13}C в углеводах и механизм фотосинтеза / А.А. Ивлев, А.У Игамбердиев, А.Ю. Дубинский // *Известия ТСХА.* – 2011. – Выпуск 2. – С. 27-50.
85. Кодина, Л.А. Распределение изотопов углерода в разных формах биогенного органического вещества 1. Распределение изотопов углерода между основными полимерами биомассы высших растений / Л.А. Кодина // *Геохимия.* – 2010. – № 12. – С. 1235-1244.
86. Leegood, R.C. *Photosynthesis: Physiology and Metabolism* / R. C. Leegood. – USA: Kluwer Academic Publishers, 2004. – 625 p.
87. Tcherkez, G. $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ fractionations in plant primary metabolism / G. Tcherkez, A. Mahe’, M. Hodges // *Trends in Plant Science.* – 2011. – Vol. 16, № 9. – P. 499-506.
88. EPA United States Environmental Protection Agency : сайт. – USA, 2022. – <http://www.epa.gov/blackcarbon/> (дата обращения: 19.11.2019). – Текст: электронный.
89. Troughton, J.H. Temperature effects on the carbon-isotope ratio of C3, C4 and crassulacean-acid-metabolism (CAM) plants / J.H. Troughton, K.A. Card // *Planta.* - 1975. – Vol. 123, № 2. – P. 185-190.

90. Carbon isotopes of C3 herbs correlate with temperature on removing the influence of precipitation across a temperature transect in the agro- pastoral ecotone of northern China / X-Z. Liu, Y. Zhang, Z-G. Li [et al.]. // *Ecol Evol.* – 2017. – Vol. 7. P. 10582-10591.
91. Heaton, T.H.E. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: a review / T.H.E. Heaton // *Chem Geol.* – 1986. – Vol. 59. – P. 87-102.
92. Kendall, C. Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. In: *Isotope Tracers in catchment hydrology* / C. Kendall, J.J. McDonnell. – Elsevier Sci. – 1998. – P. 519-576.
93. Owens, N.J.P. Natural variations in ^{15}N in the marine environment / N.J.P. Owens // *Adv Mar Biol.* – 1987. – Vol. 24. – P. 390-451.
94. Peterson, B.J. Stable isotopes in ecosystem studies / B.J. Peterson, B. Fry // *Ann Rev Ecol Syst.* – 1987. – Vol. 18. – P. 293-320.
95. Choi, W.J. Patterns of natural ^{15}N in soils and plants from chemically and organically fertilized uplands / W.J. Choi, H.M. Ro, E.A. Hobbie // *Soil Biol. Biochem.* – 2003. – Vol. 35. – P.1493-1500.
96. Логинов, Ю.М. Применение стабильных изотопов в сельском хозяйстве и биологии / Ю.М. Логинов, Л.П. Похлебкина // В кн.: *Изотопы: свойства, получение, применение.* Под ред. В.Ю. Баранова. – М.: ИздАТ. 2000. – С. 684-703.
97. Международное агентство по атомной энергии : сайт. – Vienna, Austria, 1998–2022. – URL: https://www.iaea.org/sites/default/files/publications/magazines/bulletin/bull/bull593_sept2018.pdf (дата обращения: 11.11.2019). – Текст: электронный.
98. The use of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$ tracers with an understanding of groundwater flow dynamics for evaluating the origins and attenuation mechanisms of nitrate pollution / T. Hosono, T. Tokunaga, M. Kagabu [et al.]. // *Water Research.* – 2013. – Vol. 47, № 8. – P. 2661-2675.
99. Isotopic composition of nitrogen species in groundwater under agricultural areas: A review / O. Nikolenko, A. Jurado, A. Borges [et al.]. // *Science of the Total Environment.* – 2018. – Vol. 621. – P. 1415-1432.
100. Fry, B. *Stable Isotope Ecology* / B. Fry. – Springer, USA, 2008. – 316 p.
101. Ziegler, H. Hydrogen Isotope Fractionation in Plant Tissues / H. Ziegler // *Ecological Studies.* – 1989. – 105–123. – DOI:10.1007/978-1-4612-3498-2_8.
102. Dansgaard, W. Stable Isotope in Precipitation / W. Dansgaard // *Tellus.* – 1964. – Vol.16. P. 436-468.
103. White, W. M. *Geochemistry* / W. M. White. – John Wiley & Sons Limited, 1977. – 716 p.

104. Water status modelling: impact of local rainfall variability in Burgundy (France) / B. Pauthier, L. Brillante, C. Van Leeuwen [et al.]. // The XI International Terroir Congress. – Oregon, 2016. – P. 47-53.
105. Krklec, K. The impact of moisture sources on the oxygen isotope composition of precipitation at a continental site in central Europe / K. Krklec, D. Domínguez-Villar, S. Lojen // Journal of Hydrology. – 2018. – Vol. 561. – P. 810-821.
106. Aggarwal, P.K. Isotopes in the Water Cycle: Past, Present and Future of a Developing Science / P.K. Aggarwal, J.R. Gat, K.F. Froehlich. –Springer Science, 2006. – 382 p.
107. Aggarwal, P.K. Isotope Hydrology (Benchmark Papers in Hydrology) / P.K. Aggarwal. – IAHS Press, 2012. – 484 p.
108. Mook, W.G. Environmental Isotopes in the Hydrological Cycle: Principles and Applications / W.G. Mook // UNESCO—IAEA IHP-V Technical Documents in Hydrology. – 2001. – № 39.
109. Ферронский, В.И. Изотопия гидросферы / В.И. Ферронский, В.А. Поляков – М.: Наука, 1983. – 277 с.
110. Crane E. Bees, honey and pollen as indicators of metals in the environment / E. Crane // Bee World. – 1984. – Vol. 55. – P. 47-49.
111. Pesticides in Ferrara Province: two years' monitoring with honey bees (1987-1988) / G. Celli, C. Porrini, M. Baldi [et al.]. // Ethology, Ecology and Evolution. – 1991. – Sp. Is. 1. – P. 111-115.
112. Mayer, D.F. Toxicity of fungicides and an acaricide to honey bees (Hymenoptera: Apidae) and their effects on bee foraging behavior and pollen viability on blooming apples and pears / D.F. Mayer, J.D. Lunden // Environmental Entomology. – 1986. – Vol. 15. –P. 1047-1049.
113. Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution / D. Tonelli, E. Gattavecchia, S. Ghini [et al.]. // Journal Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 1990. – Vol. 141(2). – P. 427-436.
114. Коркина, В.И. Загрязнение тяжелыми металлами пыльцевой обножки, собранной медоносными пчелами на юге Западной Сибири / В.И. Коркина // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2008. – № 5. – С. 154-158.
115. Результаты апимониторинга городской среды обитания / Н.Б. Косенко, С.Н. Белик, Т.А. Жуков [и др.]. // Молодой ученый. – 2016. – № 18-1 (122). – С. 52-54.
116. Кадиров, Р. А. Пчелы как индикаторы загрязнения окружающей среды некоторыми поллютантами: дис. канд. биол. наук / Р. А. Кадиров – Москва, 1999. – 113 с.
117. Мурашова, Е.А. Продукты пчеловодства как объективные индикаторы экологической чистоты окружающей среды / Е.А. Мурашова, В.И. Лебедев // Современные

технологии в пчеловодстве. Материалы научно-практической конференции (13-15.10.03). – Рыбное: ГНУ НИИП, 2004. – С. 130-132.

118. Петухов, А. В. Оценка экологической обстановки отдельных территорий Пермской области с помощью медоносных пчел / А. В. Петухов, Т. С. Уланова, И. С. Завгородняя // Вопросы апидологии: Сборник статей. Удмуртский государственный научно-исследовательский институт сельского хозяйства. РАСХН. – Ижевск, 2000. – С. 76-83.

119. Ишкильдин, А.Т. Экологическое состояние природной среды юга предуральской степной и горно-лесной зон Республики Башкортостан / А.Т. Ишкильдин, Н.З. Ишемгулова // Новое в науке и практике пчеловодства. – Рыбное, 2003. – С. 193-198.

120. Isotopic fractionation accompanying fertilizer nitrogen transformations in soil and trees of a Scots Pine ecosystem / H. Nõmmik, D. J. Pluth, K. Larsson [et al.]. // Plant Soil. – 1994. – Vol. 158. – P. 169–182.

121. Burkhart, R. Testing the utility of stable isotope analysis for analyzing bee foraging patterns across habitats: Research Thesis / Robert Burkhart. – The Ohio State University, 2017. – 27 p.

122. Characterisation of the geographical origin of Italian potatoes, based on stable isotope and volatile compound analyses / F. Longobardi, G. Casiello, D. Sacco [et al.]. // Food Chem. – 2011. – Vol. 124. P. 1708-1713.

123. UNI ENV 12140 : 1997 Fruit and vegetable juices – determination of the stable carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of sugars from fruit juices – method using isotope ratio mass spectrometry = Фруктовые и овощные соки. Определение стабильного углеродного отношения изотопа ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) сахара от фруктовых соков. Метод с использованием изотопной масс-спектрометрии : международный (зарубежный) стандарт : принят Ente Nazionale Italiano di Unificazione 30 июня 1997. – 14 с.

124. UNI ENV 12141 : 1997 Fruit and vegetable juices – determination of the stable oxygen isotope ratio ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) of water from fruit juices – method using isotope ratio mass spectrometry = Фруктовые и овощные соки. Определение стабильного кислородного отношения изотопа ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) воды от фруктовых соков. Метод с использованием изотопной масс-спектрометрии : международный (зарубежный) стандарт : принят Ente Nazionale Italiano di Unificazione 30 июня 1997. – 12 с.

125. AENOR UNE 12142 : 1997 Fruit and vegetable juices – determination of the stable hydrogen isotope ratio ($^2\text{H}/^1\text{H}$) of water from fruit juices – method using isotope ratio mass spectrometry = Фруктовые и овощные соки. Определение стабильного водородного отношения изотопа ($^2\text{H}/^1\text{H}$) воды от фруктовых соков. Метод с использованием изотопной масс-спектрометрии : международный (зарубежный) стандарт : принят Asociacion Espanola de Normalizacion y Certificacion 22 декабря 1997. – 14 с.

126. UNI ENV 113070 : 1997 Fruit and vegetable juices – determination of the stable carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) in the pulp of fruit juices – method using isotope ratio mass spectrometry = Фруктовые и овощные соки. Определение стабильного углеродного отношения изотопа ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) мякоти от фруктовых соков. Метод с использованием изотопной масс-спектрометрии : международный (зарубежный) стандарт : принят Ente Nazionale Italiano di Unificazione 30 июня 1997. – 14 с.

127. Possibilities and limitations of wine authentication using stable isotope ratio analysis and traceability. Part 2. Wines from Hungary, Croatia and other European countries / N. Christoph, G. Baratossy, V. Kubanovic [et al.]. // *Mitteilungen Klosterneuburg*. – 2004. – Vol. 54. – P. 155-169.

128. Detection of adulteration of commercial honey samples by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio / G.J. Padovan, D. Jong, L. Rodrigues [et al.]. // *Food Chem.* – 2003. – Vol. 82. – P. 633-636.

129. Multielement stable isotope ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions / A. Schellenberg, S. Chmielus, C. Schlicht [et al.]. // *Food Chem.* – 2010. – Vol. 121. – P. 770-777.

130. White, J.W. (1992) Internal standard stable carbon isotope ratio method for determination of C-4 plant sugars in honey: Collaborative study, and evaluation of improved protein preparation procedure / J.W. White // *J AOAC Int.* – 1992. – Vol. 75, № 3. – P. 543-548.

131. Rossmann, A. Determination of stable isotope ratios in food analysis / A. Rossmann // *Food Rev Int.* – 2001. – Vol. 17. – P. 347-381.

132. Simsek, A. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS / A. Simsek, M. Bilsel, A.C. Goren // *Food Chem.* – 2012. – Vol. 130. – P. 1115-1121.

133. Stable isotope profile (C, N, O, S) of Irish raw milk: Baseline data for authentication / R. O'Sullivan, F. Monahan, B. Bahar [et al.]. // *Food Control.* – 2021. – Vol. 121. – 107643.

134. Isotopic and elemental data for tracing the origin of European olive oils / F. Camin, R. Larcher, G. Nicolini [et al.]. // *J Agric Food Chem* – 2010. – Vol. 58. – P. 570-577.

135. Application of multielement stable isotope ratio analysis to the characterization of French, Italian and Spanish cheeses / F. Camin, K. Wietzerbin, A. Cortés [et al.]. // *Journal of agricultural and food chemistry.* – 2004. – Vol. 52. – P. 6592-6601.

136. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine / I. González-Martín, C. González-Pérez, J. Hernández Méndez [et al.]. // *Meat Sci.* – 1999. – Vol. 52. – P. 437-441.

137. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat / E. Piasentier, R. Valusso, F. Camin [et al.]. // *Meat Sci.* – 2003. – Vol. 64. – P. 239-247.

138. Калашникова, Д.А. Отношения стабильных изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ в образцах подмора медоносных пчел и в продуктах их жизнедеятельности / Д.А. Калашникова, Г.В. Симонова // Журн. аналит. химии. – 2021. – Т. 76, № 4. – С. 1-10.

139. ГОСТ 28887-2019. Пыльцевая обножка. Технические условия = Pollen beebred. Specifications : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 августа 2019 г. N 500-ст : введен впервые : дата введения 2020-06-01 / разработан Федеральным государственным бюджетным научным учреждением "Федеральный научный центр пчеловодства" (ФГБНУ "ФНЦ пчеловодства"). – Москва : Стандартинформ, 2019. – 24 с. – Текст : непосредственный.

140. ГОСТ 28886-2019. Прополис. Технические условия = Propolis. Specifications : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 августа 2019 г. N 499-ст : введен впервые : дата введения 2020-06-01 / разработан Федеральным государственным бюджетным научным учреждением "Федеральный научный центр пчеловодства" (ФГБНУ "ФНЦ пчеловодства"). – Москва : Стандартинформ, 2019. – 20 с. – Текст : непосредственный.

141. ГОСТ 21179-2000. Воск пчелиный. Технические условия = Beewax. Specifications : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Постановлением Государственного комитета Российской Федерации по стандартизации и метрологии от 27 ноября 2000 г. N 313-ст : введен впервые : дата введения 2002-01-01 / разработан Научно-исследовательским институтом пчеловодства. – Москва : Стандартинформ, 2020. – 19 с. – Текст : непосредственный.

142. Новый справочник химика и технолога. Аналитическая химия. Ч. I. –С.-Пб.: АНО НПО «Мир и Семья», 2002. – 964 с.

143. ГОСТ ISO/IEC 17025. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий = General requirements for the competence of testing and calibration laboratories : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 июля 2019 г. N 385-ст : введен взамен ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009 : дата введения 2019-09-01 / разработан Республиканским унитарным предприятием "Белорусский государственный центр аккредитации" (Государственное предприятие "БГЦА"). – Москва : Стандартинформ, 2021. – 26 с. – 40 экз. – Текст : непосредственный.

144. РМГ 76-2014. Рекомендации по межгосударственной стандартизации. Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества

результатов количественного химического анализа : официальное издание : введены в действие 01.01.2016. – Москва : Стандартинформ, 2016. – 116 с. – Текст : непосредственный.

145. РМГ 61-2010. Рекомендации по межгосударственной стандартизации. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки : введены в действие 01.09.2012. – Москва : Стандартинформ, 2013. – 62 с. – Текст : непосредственный.

146. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения = Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 1. General principles and definitions : государственный стандарт Российской Федерации : издание официальное : утвержден и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 23 апреля 2002 г. N 161-ст : введен впервые : дата введения 2002-11-01 / разработан Федеральным государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы" Госстандарта России (ВНИИМС), Всероссийским научно-исследовательским институтом стандартизации (ВНИИСтандарт), Всероссийским научно-исследовательским институтом классификации, терминологии и информации по стандартизации и качеству (ВНИИКИ) Госстандарта России. – Москва : Стандартинформ, 2006. – 24 с. – 103 экз. – Текст : непосредственный.

147. ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений = Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 2. Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method : государственный стандарт Российской Федерации : издание официальное : утвержден и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 23 апреля 2002 г. N 161-ст : введен впервые : дата введения 2002-11-01 / разработан Федеральным государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы" Госстандарта России (ВНИИМС), Всероссийским научно-исследовательским институтом стандартизации (ВНИИСтандарт), Всероссийским научно-исследовательским институтом классификации, терминологии и информации по стандартизации и качеству (ВНИИКИ) Госстандарта России. – Москва : Издательство стандартов, 2002. – 43 с. – 740 экз. – Текст : непосредственный.

148. ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике = Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 6. Use in practice of accuracy

values : государственный стандарт Российской Федерации : издание официальное : утвержден и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 23 апреля 2002 г. N 161-ст : введен впервые : дата введения 2002-11-01 / разработан Федеральным государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы" Госстандарта России (ВНИИМС), Всероссийским научно-исследовательским институтом стандартизации (ВНИИСтандарт), Всероссийским научно-исследовательским институтом классификации, терминологии и информации по стандартизации и качеству (ВНИИКИ) Госстандарта России. – Москва : Стандартинформ, 2006. – 43 с. – 83 экз. – Текст : непосредственный.

149. JCGM 100:2008 Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement / JCGM 2008. – 134 p.

150. The Online Isotopes in Precipitation Calculator, version 3.1. : сайт. – Utah, 2003–2019. – URL: <https://wateriso.utah.edu/waterisotopes/index.html> (дата обращения: 14.12.2021). – Текст: электронный.

151. Курманов, Р.Г. Пыльцевой атлас / Р.Г. Курманов, А.Р. Ишбирдин. – Уфа. – 2013. – 304 с.

152. PollenWiki : сайт. – Germany, 2022. – URL: <https://pollen.tstebler.ch/MediaWiki/index.php?title=Pollenatlas#gsc.tab=0> (дата обращения: 19.08.2021). – Текст: Изображения : электронные.

153. Germany Pat. DE10344606A1, Int Cl. : G01N 33/02 (2006.01), G01N 33/50 (2006.01), G01N 33/58 (2006.01). Determining authenticity and origin of royal jelly samples comprises determining stable isotope ratio of two or more elements and applying value pairs in two dimensional diagrams : № 103 44 606.0 : application filed 2003-09-25 : published 2006-05-11 / Bengsch E. [et al.]. – 14 p.

154. Hoefs, J. Stable Isotope Geochemistry / J. Hoefs. – Springer International Publishing Switzerland, 2018. – 437 p.

155. Krell, R. Value-added products from beekeeping / R. Krell. – Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 1996. – 412 p.

156. Abelson, P.H. Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms / P.H. Abelson, T.C. Hoering // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1961. – Vol. 47, № 5. – P. 623-632.

157. Кодина, Л.А. Внутримолекулярные и межмолекулярные изотопные эффекты на примере фенольных соединений и аминокислот природного происхождения / Л.А. Кодина, В.Н. Генералова // Рефераты докладов и сообщений IX Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Алма-Ата. – М.: Наука, 1975. – Т. 1. – С. 308.

158. Distinguishing feral and managed honeybees (*Apis mellifera*) using stable carbon isotopes / L.M. Anderson, T.M. Dynes, J. Berry [et al.]. // *Apidologie*. – 2014. – Vol. 45. – P. 653-663.
159. Germany Pat. DE10344606B4, Int Cl. : G01N 33/58 (2006.01), G01N 33/50 (2006.01), G01N 33/48 (2006.01), G01N 33/02 (2006.01). Authenticity determination of royal jelly and / or its components by (multi) isotope analysis: № 103 44 606.0 : application filed 2003-09-25 : published 2006-05-11 / Bengsch E. [et al.]. – 14 p.
160. Detecting changes in habitat-scale bee foraging in a tropical fragmented landscape using stable isotopes / B. Brosi, G. Daily, C. Chamberlain [et al.]. // *For. Ecol. Manag.* – 2009. – Vol. 258. – P. 1846-1855.
161. Hyodo, F. Estimation of the longevity of C in terrestrial detrital food webs using radiocarbon (^{14}C): how old are diets in termites? / F. Hyodo, I. Tayasu, E. Wada // *Functional Ecology*. – 2006. – Vol. 20. – P. 385-393.
162. The contribution of human foods to honey bee diets in a mid-sized metropolis / C. Penick, C. A. Crofton, R. H. Appler [et al.]. // *Journal of Urban Ecology*. – 2016. – Vol. 2, № 1. – juw001.
163. Chikaraishi, Y. Stable hydrogen and carbon isotopic compositions of long-chain (C_{21} – C_{33}) n-alkanes and n-alkenes in insects / Y. Chikaraishi, M. Kaneko, N. Ohkouchi // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2013. – Vol. 111. – P. 78-87.
164. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory / A. Pascoal, S. Rodrigues, A. Teixeira [et al.]. // *Food and Chemical Toxicology*. – 2014. – Vol. 63. – P. 233-239.
165. Plant Responses to elevated CO_2 : Evidence from Natural Springs / A. Raschi, F. Miglietta, R. Tognetti, P.V. Gardingen. – Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1997. – P. 286.
166. Макаров, М.И. Изотопный состав азота в почвах и растениях: использование в экологических исследованиях (Обзор) / М.И. Макаров // *Почвоведение*. – 2009. – №12. – С.1432-1445.
167. Szpak, P. Complexities of nitrogen isotope biogeochemistry in plant-soil systems: implications for the study of ancient agricultural and animal management practices/ P. Szpak // *Frontiers in Plant Science*. – 2014. – Vol. 5. – 288.
168. Biochemical and physiological bases for the use of carbon and nitrogen isotopes in environmental and ecological studies / N. Ohkouchi, N. O. Ogawa, Y. Chikaraishi [et al.]. // *Progress in Earth and Planetary Science*. – 2015. – Vol. 2. – 1.
169. Bateman, A.S. Fertilizer nitrogen isotope signatures / A.S. Bateman, S.D. Kelly // *Isot Environ. Healt. S.* – 2007. – V. 43, № 3. – P. 237-247.

170. Revealing N management intensity on grassland farms based on natural $\delta^{15}\text{N}$ abundance / M. Kriszan, J. Schellberg, W. Amelung [et al.]. // *Agric. Ecosyst. Environ.* – 2014. – Vol. 184. – P. 158-167.
171. Influence of different organic fertilizers on quality parameters and the $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{34}\text{S}$, and $\delta^{18}\text{O}$ values of orange fruit (*Citrus sinensis* L. Osbeck) / P. Rapisarda, F. Camin, S. Fabroni [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – Vol. 58. – P. 3502-3506.
172. Natural ^{15}N abundance in winter wheat amended with urea and compost: a long-term experiment / W. Zhou, C. Hu, J. Li [et al.]. // *Pedosphere.* – 2013. – Vol. 23. – P. 835-843.
173. Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen / R. Amundson, A. Austin, E. Schuur [et al.]. // *Global Biogeochemical Cycles.* – 2003. – Vol. 17, № 1. – 1031.
174. Farquhar, G.D. Carbon isotope discrimination and photosynthesis / G.D. Farquhar, J.R. Ehleringer, K.T. Hubick // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* – 1989. – Vol. 40. – № 1. – P. 503-537.
175. Rong, L. Research of relation between $\delta^{13}\text{C}$ value of common plants and environmental factors in Karst / L. Rong, S.J. Wang, X.L. Du // *Environ. Sci.* – 2008. – Vol. 29. – P. 2885-2893.
176. Simonova, G.V. Air quality biomonitoring with epiphytic lichens and mosses / G.V. Simonova, D.A. Kalashnikova, V.N. Melkov // *24th International Symposium on Atmospheric and Ocean Optics: Atmospheric Physics, Proc. SPIE.* – 2018. – 108335Q.
177. Lee S.C. Honey protein extraction and determination by mass spectrometry / L.S. Chua, J.Y. Lee, G.F. Chan // *Anal Bioanal Chem.* – 2013. – Vol. 405. – P. 3063-3074.
178. Immunological characterization of honey major protein and its application / S.R. Won, C.Y. Li, J. Kim [et al.]. // *Food Chemistry.* – 2009. – Vol. 113. – P. 1334-1338.
179. The Unique Protein Composition of Honey Revealed by Comprehensive Proteomic Analysis: Allergens, Venom-like Proteins, Antibacterial Properties, Royal Jelly Proteins, Serine Proteases, and Their Inhibitors / T. Erban, E. Shcherbachenko, P. Talacko [et al.]. // *Journal of natural products.* – 2019. – Vol. 82, № 5. – P. 1217-1226.
180. Rebane, R. Evaluation of the botanical origin of estonian uni- and polyfloral honeys by amino acid content / R. Rebane, K. Herodes // *J Agric Food Chem.* – 2008. – Vol. 56. – P. 10716-10720.
181. Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area / M. T. Iglesias, C. De Lorenzo, M.D.C. Polo [et al.]. // *J Agric Food Chem.* – 2004. – Vol. 52. – P. 84-89.
182. Saranraj, P. Pharmacology of Honey: A Review / P. Saranraj, S. Sivasakthi, G. D. Feliciano. – *Adv. Biol. Res.* – 2016. – Vol. 10. – P. 271-289.

183. Martinotti, S. Honeydew honey: biological effects on skin cells / S. Martinotti, G. Calabrese, E. Ranzato // *Mol. Cell. Biochem.* – 2017. – Vol. 435. – 185–192.
184. Ranzato, E. Cellular and Molecular Mechanisms of Honey Wound Healing / E. Ranzato, S. Martinotti. – Nova Science Publishers: Hauppauge, NY, 2014. – 165 p.
185. Ahmed, S. Honey as a Potential Natural Anticancer Agent: A Review of Its Mechanisms / Sarfraz Ahmed, N. Othman // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* – 2013. – Vol. 2013. – 829070.
186. Molecular Pharmacology of Honey / R. Afroz, E. Tanvir, W. Zheng [et al.]. // *Clinical and Experimental Pharmacology.* – 2016. – Vol. 6, № 3. – 1000212.
187. A Comprehensive Review on the Main Honey Authentication Issues: Production and Origin / S. Soares, J. Amaral, M.B.P. Oliveira [et al.]. // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* – 2017. – Vol. 16. – P. 1072-1100.
188. Тиунов, А.В. Изотопный состав ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) почвы, растительности, растительных остатков и сапротрофных подстилочных грибов / А.В. Тиунов, Е.Э. Семенина, А.В. Александрова // *Структура и функции почвенного населения тропического муссонного леса (национальный парк Кат Тьен, Южный Вьетнам).* – 2011. – 235-253 с.
189. Investigation of the ‘canopy effect’ in the isotope ecology of temperate woodlands / M. Bonafini, M. Pellegrini, P. Ditchfield [et al.]. // *Journal of Archaeological Science.* – 2013. – Vol. 40. – P. 3926-3935.
190. Merwe, N.V.D. The canopy effect, carbon isotope ratios and foodwebs in Amazonia / N. V. D. Merwe, E. Medina // *Journal of archeological science.* – 1991. – Vol. 18. – P. 249-259.
191. Study and validity of ^{13}C stable carbon isotopic ratio analysis by mass spectrometry and ^2H site specific natural isotopic fractionation by nuclear magnetic resonance isotopic measurements to characterize and control the authenticity of honey / J. Cotte, H. Casabianca, J. Lhéritier [et al.]. // *Anal. Chim. Acta.* – 2007. – Vol. 582 (1). – P. 125-136.
192. Doner, L.W. Carbon-13/Carbon-12 Ratio is relatively uniform among honeys / L.W. Doner, J.W. White // *Science.* – 1977. – Vol. 197. – P. 891-892.
193. Giraudon, S. Deuterium nuclear magnetic resonance spectroscopy and stable carbon isotope ratio analysis/mass spectrometry of certain monofloral honeys / S. Giraudon, M. Danzart, M.H. Merle // *J AOAC Int.* – 2000. – Vol. 83. – P. 1401-1409.
194. White, J.W. $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ ratio in honey / J.W. White, L.W. Doner // *J Apic Res* – 1978. – Vol. 17. – P. 94-99.
195. White, J.W. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of citrus honeys and nectars and their regulatory implications / J.W. White, F.A. Robinson // *J AOAC Int.* – 1983. – Vol. 66. – 1-3.

196. Stable carbon isotope ratio analysis of honey: validation of internal standard procedure for worldwide application / J. White, K. Winters, P.E.M. Martin [et al.]. // *J AOAC Int.* – 1998. – Vol. 81. – P. 610-619.
197. Die Verwendung stabiler isotope zur charakterisierung von honigen, ihrer herkunft und ihrer verfälschung / H. Ziegler, W. Stichler, A. Maurizio [et al.]. // *Apidologie.* – 1977. – № 8(4). – P. 337-347.
198. Craig, H. Isotopic variations in meteoric waters / H. Craig // *Science.* – 1961. – Vol. 133. – P. 1702-1703.
199. Stable isotope ratios of tap water in the contiguous United States / G. Bowen, J. Ehleringer, L. Chesson [et al.]. // *Water Resour. Res.* – 2007. – Vol. 43. – W03419.
200. Official methods of analysis method 998.12: C-4 plant sugars in honey. Internal standard stable carbon isotope ratio method : Association of Official Analytical Chemists (AOAC) : January 1998. – 3 p.
201. Колеснов, А.Ю. Масс-спектрометрические исследования состава стабильных изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C в сахарах различного происхождения / А.Ю. Колеснов, М.Б. Мойсеяк, А.Г. Талибова // *Сахар.* – 2011. – № 8. – С. 39-45.
202. Forensic Stable Isotope Biogeochemistry / T. E. Cerling, J.E. Barnette, G. Bowen [et al.]. // *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* – 2016. – Vol. 44. – P. 175-206.
203. O’Leary, M.H. Carbon isotopes in photosynthesis / O’Leary M.H. // *Bioscience.* – 1988. Vol. 38. – P. 328–336.
204. White, J.W. Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration of honey / J.W. White, K. Winters // *J. Assoc. Off Ana. Chem.* – 1989. – Vol. 72. – P. 907-911.
205. Adulteration identification of commercial honey with the C-4 sugar content of negative values by an elemental analyzer and liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectroscopy / H. Dong, K. Xiao, D. Luo [et al.]. // *J. Agric. Food Chem.* – 2016. – Vol. 64. – P. 3258-3265.
206. Hydrogen ($^2\text{H}/^1\text{H}$) combined with carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) isotope ratios analysis to determine the adulteration of commercial honey / D. Luo, H. Luo, H. Dong [et al.]. // *Food Anal. Method.* – 2016. – Vol. 9. – P. 255-262.

Приложение А

Результаты измерений изотопных характеристик продуктов пчеловодства

Таблица А1 – Изотопные характеристики образцов воска (‰)

№	Год сбора	Регион	$\delta^{13}\text{C}$	δD	$\delta^{18}\text{O}$
1	2019	Алтайский край, Красногорский район	-28,6±0,1	—	—
2	2019	Алтайский край, Красногорский район	-30,3±0,2	—	—
3	2019	Алтайский край, Краснощековский район	-28,4±0,1	—	—
4	2019	Томская область, Шегарский район	-28,9±0,1	—	—
5	2019	Томская область, Асиновский район	-28,2±0,1	—	—
6	2019	Томская область, Кожевниковский район	-28,6±0,1	—	—
7	2019	Томская область, Асиновский район	-28,8±0,2	-271,8±2,0	-35,4±0,5
8	2019	Томская область, Томский район	-27,9±0,2	—	—
9	2019	Томская область, Томский район	-28,4±0,1	—	—
10	2019	Томская область, Томский район	-28,5±0,2	—	—
11	2019	Томская область, Шегарский район	-27,8±0,1	—	—
12	2019	Кемеровская область, Юргинский район	-29,2±0,2	—	—
13	2019	Кемеровская область, Прокопьевский район	-28,2±0,2	-202,3±1,5	—
14	2019	Калужская область, Малоярославецкий район	-29,8±0,2	—	—
15	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-27,4±0,1	-263,6±1,7	-50,6±0,6
16	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-28,0±0,1	-254,5±1,6	-50,0±0,4
17	2020	Алтайский край, Целинный район	-28,8±0,2	-308,6±2,0	-57,8±0,5
18	2020	Томская область, Шегарский район	-28,8±0,2	-297,8±1,5	—
19	2020	Томская область, Томский район	-28,2±0,2	-286,8±2,6	-64,3±0,5
20	2020	Томская область, Томский район	-28,7±0,2	-290,7±2,0	-70,8±0,6
21	2020	Томская область, Асиновский район	-28,1±0,1	-293,8±1,7	-51,0±0,6
22	2020	Томская область, Зырянский район	-28,4±0,2	-300,6±1,8	-39,8±0,5
23	2020	Томская область, Шегарский район	-28,6±0,2	-292,0±2,1	-35,2±0,3
24	2020	Томская область, Кривошеинский район	-28,8±0,2	-290,4±1,5	—
25	2020	Томская область, Асиновский район	-28,7±0,2	-283,7±1,7	-38,9±0,5

Продолжение таблицы А1

26	2020	Томская область, Кривошеинский район	-28,2±0,2	-302,2±2,2	-37,6±0,4
27	2020	Томская область, Зырянский район	-28,7±0,2	-292,9±1,0	-40,3±0,6
28	2020	Томская область, Зырянский район	-28,8±0,2	-295,3±1,4	—
29	2020	Томская область, Заречный район	-29,0±0,1	-292,3±1,7	-70,4±0,6
30	2020	Томская область, Томский район	-29,4±0,2	-289,4±1,5	-24,0±0,5
31	2020	Кемеровская область, Киселевский городской округ	-29,0±0,2	-299,0±2,1	-39,7±0,6
32	2020	Калужская область, Мещевский район	-28,9±0,2	-252,9±2,0	-57,8±0,4
33	2020	Калужская область, Козельский район	-28,2±0,2	-261,2±2,2	-43,3±0,5

Таблица А2 – Изотопные характеристики образцов прополиса (‰)

№	Год сбора	Регион	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
1	2019	Алтайский край, Красногорский район	-28,3±0,1	8,0±0,6
2	2019	Алтайский край, Краснощековский район	-26,5±0,1	7,0±0,5
3	2019	Томская область, Шегарский район	-27,5±0,2	2,8±0,5
4	2019	Томская область, Кожевниковский район	-26,8±0,2	1,4±0,5
5	2019	Томская область, Томский район	-27,2±0,2	1,9±0,6
6	2019	Томская область, Томский район	-27,8±0,2	3,0±0,5
7	2019	Томская область, Зырянский район	-27,1±0,1	8,5±0,6
8	2019	Томская область, Томский район	-27,2±0,2	2,2±0,4
9	2019	Томская область, Колпашевский район	-27,8±0,1	4,1±0,5
10	2019	Томская область, Шегарский район	-27,5±0,2	0,4±0,5
11	2019	Кемеровская область, Юргинский район	-26,6±0,2	4,3±0,6
12	2019	Кемеровская область, Прокопьевский район	-28,1±0,2	5,9±0,6
13	2019	Калужская область, Малоярославецкий район	-26,8±0,1	11,2±0,6
14	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-27,2±0,1	4,1±0,5
15	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-27,8±0,1	4,6±0,6
16	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-27,7±0,2	6,9±0,6
17	2020	Алтайский край, Целинный район	-28,1±0,2	4,1±0,5
18	2020	Алтайский край, Поспелихинский район	-24,4±0,2	9,3±0,6
19	2020	Томская область, Шегарский район	-27,6±0,2	1,6±0,4
20	2020	Томская область, Томский район	-27,6±0,2	6,3±0,6
21	2020	Томская область, Томский район	-27,8±0,1	2,8±0,3
22	2020	Томская область, Асиновский район	-26,9±0,1	3,3±0,4
23	2020	Томская область, Томский район	-27,1±0,2	5,7±0,5
24	2020	Томская область, Асиновский район	-27,9±0,2	5,5±0,6
25	2020	Томская область, Зырянский район	-27,7±0,2	1,0±0,3
26	2020	Томская область, Шегарский район	-27,3±0,2	2,9±0,4
27	2020	Томская область, Кривошеинский район	-27,9±0,1	4,3±0,5
28	2020	Томская область, Асиновский район	-27,6±0,2	0,6±0,3
29	2020	Томская область, Зырянский район	-27,8±0,2	1,7±0,4
30	2020	Томская область, Зырянский район	-27,2±0,2	2,6±0,4
31	2020	Кемеровская область, Киселевский городской округ	-28,5±0,2	5,0±0,6
32	2020	Калужская область, Мещевский район	-27,6±0,1	2,7±0,5
33	2020	Калужская область, Козельский район	-27,2±0,1	1,4±0,4

Таблица А3 – Изотопные характеристики образцов подмора пчел (‰)

№	Год сбора	Регион	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	δD	$\delta^{18}\text{O}$
1	2019	Алтайский край, Красногорский район	-26,2±0,1	7,9±0,6	—	—
2	2019	Алтайский край, Красногорский район	-26,0±0,2	4,5±0,5	—	—
3	2019	Алтайский край, Рубцовский район	-25,7±0,1	5,8±0,5	—	—
4	2019	Алтайский край, Краснощековский район	-26,6±0,2	6,8±0,6	—	—
5	2019	Томская область, Шегарский район	-26,6±0,1	6,1±0,5	—	—
6	2019	Томская область, Асиновский район	-26,4±0,2	6,6±0,6	-107,6±2,5	-3,2±0,5
7	2019	Томская область, Томский район	-25,9±0,2	5,5±0,4	—	—
8	2019	Томская область, Томский район	-26,1±0,1	8,1±0,6	—	—
9	2019	Томская область, Томский район	-26,7±0,1	4,7±0,4	—	—
10	2019	Томская область, Колпашевский район	-25,1±0,2	9,8±0,6	—	—
11	2019	Томская область, Шегарский район	-26,0±0,2	4,8±0,5	—	—
12	2019	Томская область, Томский район	-26,7±0,2	5,7±0,5	—	—
13	2019	Кемеровская область, Юргинский район	-26,6±0,1	6,6±0,6	—	—
14	2019	Кемеровская область, Прокопьевский район	-26,2±0,2	4,1±0,4	-96,3±1,8	6,6±0,6
15	2019	Калужская область, Малоярославецкий район	-26,4±0,2	5,2±0,5	—	—
16	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-26,0±0,2	4,5±0,5	-76,5±1,5	6,6±0,5
17	2020	Алтайский край, Поспелихинский район	-26,0±0,1	4,9±0,4	-129,1±2,0	12,4±0,6
18	2020	Алтайский край, Солонешенский район	-26,4±0,2	5,8±0,6	-94,3±0,9	12,5±0,4
19	2020	Томская область, Асиновский район	-25,6±0,1	5,2±0,6	-104,6±1,5	5,0±0,4
20	2020	Томская область, Томский район	-25,6±0,2	6,4±0,6	-99,3±1,8	4,5±0,5
21	2020	Томская область, Томский район	-26,1±0,2	6,5±0,5	—	—
22	2020	Томская область, Томский район	-25,8±0,2	4,9±0,4	-100,9±1,9	0,1±0,4
23	2020	Томская область, Шегарский район	-25,9±0,1	5,0±0,5	-110,0±2,1	7,0±0,6

Продолжение таблицы А3

24	2020	Томская область, Асиновский район	-25,7±0,2	9,4±0,6	—	—
25	2020	Томская область, Кривошеинский район	-26,7±0,2	7,6±0,6	—	—
26	2020	Томская область, Асиновский район	-26,3±0,1	7,0±0,4	-100,8±1,8	2,8±0,4
27	2020	Томская область, Зырянский район	-25,9±0,2	6,2±0,5	—	—
28	2020	Кемеровская область, Киселевский городской округ	-26,2±0,1	5,3±0,5	-140,4±2,3	3,1±0,5
29	2020	Калужская область, Мещевский район	-26,3±0,2	6,5±0,6	-89,8±1,4	7,5±0,6
30	2020	Калужская область, Козельский район	-25,8±0,2	3,6±0,4	-84,4±0,8	5,0±0,5
31	2020	Марий Эл, Сернурский район	-28,1±0,1	2,7±0,4	-90,3±0,9	3,7±0,5
32	2020	Курская область, Золотухинский район	-28,1±0,1	9,5±0,6	-75,8±0,8	6,7±0,5
33	2020	Липецкая область, Верховье Дона	-26,8±0,2	8,1±0,6	-91,2±1,2	2,5±0,3
34	2020	Адыгея, Майкопский район	-25,5±0,2	3,7±0,4	-78,6±1,1	9,1±0,6
35	2020	Пензенская область, Сердобский район	-26,0±0,1	7,2±0,5	-97,4±1,5	5,8±0,6
36	2020	Ростовская область	-27,1±0,2	6,2±0,6	-89,2±1,2	2,4±0,4

Таблица А4 – Изотопные характеристики образцов пыльцевой обножки (‰)

№	Год сбора	Регион	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	δD	$\delta^{18}\text{O}$
1	2019	Алтайский край, Бийский район	-29,4±0,2	2,4±0,4	-109,3±1,8	18,9±0,6
2	2019	Алтайский край, Бийский район	-26,9±0,1	2,5±0,5	—	—
3	2019	Алтайский край, Красногорский район	-28,1±0,1	2,7±0,4	—	—
4	2019	Алтайский край, Краснощековский район	-25,5±0,2	3,2±0,6	—	—
5	2019	Томская область, Шегарский район	-26,5±0,2	4,1±0,5	—	—
6	2019	Томская область, Асиновский район	-25,1±0,2	2,3±0,3	-83,8±1,0	15,8±0,5
7	2019	Томская область, Томский район	-27,2±0,1	6,9±0,6	—	—
8	2019	Томская область, Томский район	-28,4±0,2	6,2±0,6	—	—
9	2019	Томская область, Зырянский район	-27,7±0,2	5,7±0,6	—	—
10	2019	Томская область, Томский район	-28,8±0,1	3,0±0,5	—	—
11	2019	Томская область, Томский район	-28,2±0,2	7,2±0,6	—	—
12	2019	Томская область, Шегарский район	-27,3±0,2	6,5±0,6	—	—
13	2019	Кемеровская область, Прокопьевский район	-25,7±0,2	2,6±0,4	-67,3±1,1	19,3±0,6
14	2019	Калужская область, Малоярославецкий район	-27,9±0,1	2,1±0,5	—	—
15	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-27,1±0,1	4,1±0,5	—	—
16	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-31,2±0,2	-2,8±0,6	-52,0±1,2	26,6±0,6
17	2020	Алтайский край, Поспелихинский район	-27,5±0,1	7,5±0,6	-82,4±1,8	21,1±0,5
18	2020	Алтайский край, Солонешенский район	-27,2±0,2	4,0±0,5	-69,0±1,4	12,0±0,4
19	2020	Томская область, Шегарский район	-27,5±0,2	3,2±0,4	-109,1±1,5	16,6±0,5
20	2020	Томская область, Асиновский район	-28,2±0,2	3,0±0,4	-108,2±1,9	16,6±0,6
21	2020	Томская область, Томский район	-27,9±0,1	3,4±0,5	-117,5±1,8	16,0±0,5
22	2020	Томская область, Томский район	-27,4±0,1	2,0±0,4	-124,9±1,7	15,3±0,6
23	2020	Томская область, Шегарский район	-26,7±0,2	3,6±0,5	-108,7±2,1	18,0±0,4

Продолжение таблицы А4

24	2020	Томская область, Томский район	-25,5±0,2	7,2±0,6	-82,9±1,1	16,1±0,4
25	2020	Томская область, Зырянский район	-27,6±0,2	0,3±0,4	-110,4±1,9	17,0±0,6
26	2020	Томская область, Зырянский район	-26,1±0,1	4,8±0,5	—	—
27	2020	Кемеровская область, Киселевский городской округ	-27,4±0,2	3,6±0,4	-111,1±2,1	16,1±0,5
28	2020	Калужская область, Мещевский район	-26,7±0,1	3,2±0,5	-87,8±1,0	22,7±0,6
29	2020	Татарстан, Кукморский район	-26,5±0,1	4,0±0,5	-103,3±1,6	13,3±0,6
30	2020	Марий Эл, Сернурский район	-27,4±0,2	0,4±0,4	-75,7±1,1	16,7±0,5
31	2020	Курская область, Золотухинский район	-26,1±0,2	8,5±0,6	-47,2±1,2	18,1±0,6
32	2020	Липецкая область	-24,3±0,2	7,4±0,6	-66,4±1,3	17,8±0,5
33	2020	Адыгея, Майкопский район	-28,4±0,1	5,8±0,6	-101,0±1,1	13,7±0,4
34	2020	Пензенская область, Сердобский район	-27,6±0,1	3,2±0,5	-98,6±1,0	11,1±0,5
35	2020	Ростовская область	-25,9±0,2	6,3±0,6	-85,0±1,4	15,1±0,6

Таблица А5 – Изотопные характеристики образцов меда (‰)

№	Год сбора	Регион	$\delta^{13}\text{C}$	δD	$\delta^{18}\text{O}$	$\delta^{15}\text{N}$
1	2	3	4	5	6	7
1	2016	Алтайский край, Красногорский район	-28,9±0,1	-111,1±2,1	14,0±0,5	—
2	2016	Алтайский край, Алтайский район	-29,5±0,2	—	17,8±0,6	—
3	2016	Алтайский край, Солонешенский район	-27,6±0,1	-92,9±1,5	18,2±0,6	—
4	2016	Алтайский край, Залесовский район	-29,4±0,2	—	14,8±0,5	—
5	2016	Томская область, Томский район	-26,9±0,2	-84,2±1,7	17,8±0,6	—
6	2016	Томская область, Бакчарский район	-27,9±0,1	-110,0±2,3	16,9±0,6	—
7	2016	Башкортостан, разнотравный	-26,2±0,2	-71,9±1,2	22,4±0,6	—
8	2016	Башкортостан, горный	-26,7±0,1	-67,9±1,6	18,5±0,5	—
9	2016	Пензенская область, Пачелмский район	-26,0±0,1	—	—	—
10	2016	Приморский край, Михайловский район	-25,6±0,2	-65,0±1,7	22,6±0,6	—
11	2016	Приморский край, Уссурийский городской округ	-25,0±0,2	-70,0±1,3	20,2±0,5	—
12	2016	Краснодарский край, Туапсинский район	-25,6±0,2	-45,9±1,1	24,9±0,6	—
13	2016	Краснодарский край, Туапсинский район	-25,9±0,1	-55,8±1,4	24,2±0,6	—
14	2016	Краснодарский край, Туапсинский район	-26,4±0,1	-73,2±1,6	23,0±0,5	—
15	2016	Краснодарский край, Туапсинский район	-25,2±0,2	-52,0±1,8	23,0±0,6	—
16	2016	Адыгея, Майкоп	-26,1±0,2	-82,8±2,0	17,4±0,5	—
17	2016	Адыгея, Майкоп	-24,2±0,1	-49,1±1,1	23,4±0,6	—
18	2016	Алтайский край, Солонешенский район	—	-99,7±1,9	16,3±0,5	—
19	2016	Алтайский край, Алтайский район	—	-95,0±1,8	19,8±0,5	—
20	2016	Башкортостан, гречишный	—	-106,5±2,5	17,0±0,5	—
21	2019	Алтайский край, Красногорский район	-29,0±0,1	-116,6±2,3	16,9±0,5	8,3±0,6
22	2019	Алтайский край, Красногорский район	-28,6±0,2	—	—	—
23	2019	Алтайский край, Рубцовский район	-27,0±0,1	-104,7±1,4	18,8±0,5	4,8±0,4

Продолжение таблицы А5

1	2	3	4	5	6	7
24	2019	Алтайский край, Краснощековский район	-26,5±0,2	-102,7±1,8	20,9±0,6	4,8±0,5
25	2019	Томская область, Шегарский район	-27,3±0,2	-114,2±1,4	18,6±0,6	4,6±0,5
26	2019	Томская область, Асиновский район	-26,7±0,1	-126,2±2,4	17,6±0,5	3,8±0,5
27	2019	Томская область, Кожевниковский район	-27,0±0,1	-106,3±1,8	—	5,1±0,4
28	2019	Томская область, Асиновский район	-27,3±0,1	—	—	4,9±0,6
29	2019	Томская область, Томский район	-26,8±0,2	—	—	5,0±0,5
30	2019	Томская область, Томский район	-26,0±0,1	—	—	3,2±0,4
31	2019	Томская область, Зырянский район	-26,8±0,2	—	—	4,1±0,5
32	2019	Томская область, Томский район	-25,9±0,2	—	—	3,6±0,4
33	2019	Томская область, Колпашевский район	-26,1±0,1	—	—	5,0±0,5
34	2019	Томская область, Шегарский район	-26,3±0,2	—	—	2,8±0,4
35	2019	Томская область, Зырянский район	-26,3±0,2	-88,1±1,2	18,3±0,5	4,6±0,6
36	2019	Кемеровская область, Юргинский район	-27,7±0,2	-104,1±1,7	15,5±0,5	7,3±0,6
37	2019	Кемеровская область, Прокопьевский район	-26,7±0,2	—	—	4,0±0,5
38	2019	Калужская область, Малоярославецкий район	-27,8±0,2	-59,5±1,1	16,3±0,5	3,9±0,5
39	2019	Калужская область, Малоярославецкий район	-24,9±0,1	-15,3±2,8	23,2±0,6	5,0±0,6
40	2019	Калужская область, Малоярославецкий район	-25,6±0,2	4,2±3,0	21,2±0,6	2,9±0,4
41	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-24,4±0,1	-41,4±1,9	21,6±0,6	4,1±0,5
42	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-26,1±0,2	-56,0±1,4	23,9±0,5	-0,7±0,4
43	2019	Краснодарский край, Туапсинский район	-26,2±0,1	—	—	1,3±0,4
44	2020	Алтайский край, Целинный район	-27,2±0,2	—	—	6,5±0,6
45	2020	Алтайский край, Поспелихинский район	-26,4±0,1	—	—	3,2±0,5
46	2020	Алтайский край, Поспелихинский район	-26,3±0,1	—	—	5,2±0,6
47	2020	Алтайский край, Смоленский район	-28,1±0,2	—	—	7,0±0,6

Продолжение таблицы А5

1	2	3	4	5	6	7
48	2020	Алтайский край, Шипуновский район	-27,8±0,1	—	—	6,7±0,6
49	2020	Алтайский край, Советский район	-28,7±0,1	—	—	5,3±0,5
50	2020	Алтайский край, Солонешенский район	-26,6±0,1	-56,9±1,1	14,7±0,5	3,5±0,4
51	2020	Алтайский край	-22,3±0,2	-27,0±2,8	20,8±0,6	12,0±0,6
52	2020	Томская область, Шегарский район	-27,8±0,2	—	—	5,0±0,5
53	2020	Томская область, Асиновский район	-27,6±0,1	—	—	4,8±0,5
54	2020	Томская область, Асиновский район	-26,1±0,2	—	—	6,2±0,4
55	2020	Томская область, Томский район	-27,3±0,1	—	—	3,6±0,5
56	2020	Томская область, Томский район	-29,0±0,1	—	—	7,8±0,6
57	2020	Томская область, Томский район	-25,9±0,1	—	—	4,5±0,4
58	2020	Томская область, Томский район	-28,7±0,2	-106,0±1,9	19,6±0,5	7,8±0,5
59	2020	Томская область, Томский район	-26,8±0,2	—	—	5,4±0,5
60	2020	Томская область, Томский район	-27,2±0,1	-76,8±1,4	17,6±0,5	4,4±0,4
61	2020	Томская область, Шегарский район	-27,3±0,1	—	—	3,7±0,4
62	2020	Томская область, Томский район	-26,3±0,2	—	—	3,9±0,4
63	2020	Томская область, Асиновский район	-26,9±0,2	—	—	4,8±0,4
64	2020	Томская область, Томский район	-26,6±0,1	—	—	4,9±0,5
65	2020	Томская область, Асиновский район	-27,3±0,2	—	—	4,4±0,4
66	2020	Томская область, Зырянский район	-26,9±0,1	—	—	3,9±0,5
67	2020	Томская область, Зырянский район	-26,9±0,1	—	—	4,0±0,6
68	2020	Томская область, Шегарский район	-26,8±0,2	—	—	4,5±0,6
69	2020	Томская область, Шегарский район	-26,4±0,2	—	—	4,1±0,5
70	2020	Томская область, Кривошеинский район	-26,7±0,1	—	—	6,1±0,6
71	2020	Томская область, Асиновский район	-27,3±0,2	-103,6±2,0	15,1±0,5	4,8±0,6

Продолжение таблицы А5

1	2	3	4	5	6	7
72	2020	Томская область, Кривошеинский район	-26,0±0,2	—	—	4,4±0,5
73	2020	Томская область, Зырянский район	-27,8±0,1	—	—	3,6±0,4
74	2020	Томская область, Зырянский район	-27,1±0,2	—	—	4,0±0,4
75	2020	Томская область, Зырянский район	-26,9±0,1	—	—	3,4±0,5
76	2020	Томская область, Молчановский район	-26,9±0,2	—	—	4,9±0,5
77	2020	Томская область, Заречный район	-27,1±0,1	—	—	4,0±0,6
78	2020	Томская область, Томский район	-27,6±0,1	—	—	4,8±0,6
79	2020	Кемеровская область, Юргинский район	-26,5±0,1	—	—	4,7±0,5
80	2020	Кемеровская область, Киселевский городской округ	-25,4±0,1	-76,6±1,2	24,2±0,6	5,2±0,6
81	2020	Кемеровская область, Прокопьевский район	-27,5±0,2	-86,6±1,1	12,7±0,4	7,3±0,6
82	2020	Калужская область, Мещевский район	-27,3±0,1	-62,9±1,8	20,2±0,5	4,3±0,5
83	2020	Калужская область, Козельский район	-27,4±0,1	-75,1±1,9	20,1±0,6	5,1±0,4
84	2020	Приморье, липовый	-26,4±0,2	-60,6±2,1	17,1±0,5	1,4±0,4
85	2020	Новосибирская область, Болотнинский район	-28,2±0,2	-81,7±2,5	14,8±0,5	5,6±0,5
86	2020	Татарстан, Кукморский район	-26,5±0,2	-47,4±2,8	24,1±0,6	4,4±0,4
87	2020	Марий Эл, Сернурский район	-26,0±0,1	-40,5±2,9	—	4,7±0,5
88	2020	Курская область, Золотухинский район	-27,4±0,1	-58,3±2,1	21,8±0,6	5,6±0,5
89	2020	Липецкая область, Верховье Дона	-24,6±0,2	-42,6±1,8	26,0±0,6	5,8±0,6
90	2020	Адыгея, Майкопский район	-26,8±0,1	-71,3±1,9	24,3±0,5	3,9±0,5
91	2020	Пензенская область, Сердобский район	-25,7±0,2	-54,3±1,4	19,9±0,5	5,9±0,6
92	2020	Мордовия	-26,8±0,1	-70,4±1,3	21,2±0,6	5,9±0,5
93	2020	Белгородская область, акациевый	-25,1±0,1	-35,9±2,8	24,9±0,6	5,0±0,4
94	2020	Белгородская область, липовый	-24,9±0,2	-46,7±2,5	25,6±0,6	5,3±0,4
95	2020	Крым	-25,2±0,2	-43,2±2,6	24,9±0,5	5,9±0,5
96	2020	Башкортостан	-26,6±0,1	-49,9±2,5	21,6±0,6	8,2±0,6

Продолжение таблицы А5

1	2	3	4	5	6	7
97	2021	Башкортостан	-26,4±0,2	-57,7±2,4	24,5±0,5	3,8±0,5
98	2021	Башкортостан, липовый + разнотравье	-26,1±0,2	-54,3±1,9	22,5±0,6	1,8±0,4
99	2021	Алтайский край, Красногорский район	-26,9±0,1	-49,6±1,8	24,0±0,6	3,7±0,5
100	2021	Башкортостан, липовый	-24,8±0,1	—	—	3,0±0,4
101	2021	Алтайский край, разнотравье	-27,2±0,2	—	—	2,1±0,6
102	2021	Алтайский край, эспарцетовый	-27,3±0,2	-82,9±1,7	19,6±0,5	2,8±0,5
103	2021	Томская область, Томский район	-27,7±0,1	-85,6±1,9	18,8±0,5	4,6±0,4
104	2021	Краснодарский край, Новороссийск	-24,4±0,2	-56,7±2,1	25,5±0,5	2,9±0,5
105	2021	Краснодарский край, Геленджик	-26,4±0,1	-34,5±2,8	24,1±0,6	-1,0±0,4
106	2021	Краснодарский край, Геленджик	-24,5±0,2	-0,5±3,0	20,0±0,6	0,2±0,4
107	2022	Алтайский край, дягелевый	-27,0±0,2	-64,0±1,1	—	—
108	2022	Алтайский край, гречишный	-27,1±0,1	-74,2±2,0	—	2,7±0,6
109	2022	Алтайский край	-27,0±0,2	-61,5±2,5	—	—
110	2022	Алтайский край, горный	-27,6±0,1	-89,9±2,1	—	5,3±0,5
111	2022	Алтайский край, разнотравье	-28,5±0,2	-95,2±1,4	—	5,4±0,6
112	2022	Алтайский край, горный	-28,1±0,1	-86,2±1,4	—	3,9±0,4
113	2022	Алтайский край, Алтайский район	-27,3±0,2	-65,3±1,5	—	3,0±0,5
114	2022	Алтайский край, Алтайский район	-28,1±0,1	-77,3±1,2	—	2,1±0,4
115	2022	Алтайский край, Рубцовский район	-27,4±0,1	-88,6±1,6	—	3,5±0,5
116	2022	Бурятия, Мухоршибирский район	-27,9±0,2	-84,4±1,2	—	5,1±0,4
117	2022	Бурятия, Джидинский район	-27,7±0,1	-91,4±2,0	—	5,6±0,6
118	2022	Бурятия, Джидинский район	-27,8±0,2	-80,8±1,6	—	2,0±0,5
119	2022	Бурятия, Бичурский район	-28,5±0,2	-80,6±1,4	—	4,2±0,4
120	2022	Белоруссия, Гродненский район	-24,0±0,2	-39,5±1,0	—	2,4±0,5

Приложение Б

Акт об использовании результатов кандидатской диссертационной работы



117218, г. Москва,
ул. Дмитрия Ульянова, д. 42, стр. 1, этаж 2, ком. 15
Тел/Факс: +7 (495) 995-88-90

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «МС-АНАЛИТИКА»

 Кузнецова О.Ю.

13 сентября 2022 г.

АКТ

об использовании результатов
кандидатской диссертационной работы
Калашниковой Дарьи Андреевны

Результаты диссертационной работы «Масс-спектрометрическое исследование изотопного состава водорода, кислорода, углерода и азота в продуктах пчеловодства» могут быть использованы предприятием ООО «МС-АНАЛИТИКА» для определения изотопного состава углерода, азота, водорода и кислорода в меде.

Использование рекомендаций к масс-спектрометрическому исследованию изотопного состава водорода, углерода и кислорода в меде позволяет провести идентификацию медовой продукции, используя соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, с оценкой ее географического происхождения и для проверки подлинности на факт фальсификации.

Генеральный директор
ООО «МС - АНАЛИТИКА»



Кузнецова О.Ю.



Приложение В

Акт внедрения результатов диссертационной работы



ООО «Городской супермаркет»

ОГРН: 1027705012312

ИНН: 7705466989

Юридический адрес: 115054 г. Москва, Валовая ул., д. 8/18

Сайт: <https://av.ru/>

Тел.: +7(495) 504-34-87/504-34-77

E-mail: ofedoseenko@azbukavkusa.ru

АКТ ВНЕДРЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Калашниковой Дарьи Андреевны

«Масс-спектрометрическое исследование изотопного состава водорода,
кислорода, углерода и азота в продуктах пчеловодства»

Настоящим актом подтверждаем, что предложенные в диссертационной работе рекомендации к масс-спектрометрическому исследованию изотопного состава водорода, азота, углерода и кислорода в продуктах пчеловодства внедрены в систему контроля качества и безопасности продукции ООО «Городской супермаркет» (г. Москва).

Вид внедренных результатов:

- рекомендации к масс-спектрометрическому измерению отношений стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в меде
- контроль географического происхождения меда при использовании предложенных рекомендаций
- проверка подлинности на факт фальсификации меда.

Характеристика масштаба внедрения: проанализированы образцы меда в лаборатории ООО «Городской супермаркет» (г. Москва) в количестве 22 образцов меда. Полученные данные полностью подтвердили свою полезность.

Отмечено, что предложенные в диссертационной работе рекомендации легли в основу аттестуемой методики измерению отношений стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в меде. Собранный база данных значений изотопного состава углерода, азота, водорода и кислорода продуктов пчеловодства российских производителей из различных регионов может быть использована для сравнительного анализа, что поспособствует более эффективной интерпретации результатов.

Начальник лаборатории
ООО «Городской супермаркет»



О.В. Федосеенко