

# Визначення фальсифікації цукру та етанолу методом аналізу стабільних ізотопів Карбону

**Я.Ф. Жукова**, кандидат біологічних наук, завідувач лабораторії аналітичних досліджень та якості продукції Інституту продовольчих ресурсів НААН України

**Ю.М. Деміхов**, кандидат геолого-мінералогічних наук, завідувач лабораторії ізотопної геохімії Інституту геохімії навколишнього середовища НАН України

**Н.М. Борисова**, провідний інженер, Інститут геохімії навколишнього середовища НАН України

**Л.М. Хомічак**, доктор технічних наук, професор, член-кореспондент НААН України, заступник директора з наукової роботи Інституту продовольчих ресурсів НААН України

**П.І. Петров**, молодший науковий співробітник лабораторії аналітичних досліджень та якості продукції Інституту продовольчих ресурсів НААН України

Суттєвою відмінністю між цукрами з різної сировини є особливості протікання фотосинтезу в різних рослинах. Фотосинтез у цукровому буряку відбувається за С3-типом (з утворенням 3-карбонових сполук), а у цукровій тростині – за С4-типом (з утворенням 4-карбонових сполук). Це обумовлює різний ізотопний профіль цукрів, тому для визначення фальсифікації цукру та етанолу можливо застосовувати метод аналізу стабільних ізотопів Карбону.

Ключові слова: етанол, мас-спектрометрія, стабільні ізотопи,  $\delta^{13}\text{C}$ , цукор, цукровий буряк, цукрова тростина.

Существенным отличием между сахарами из различного сырья являются особенности протекания фотосинтеза в различных растениях. Фотосинтез в сахарной свекле происходит по С3-типу (с образованием 3-углеродных соединений), а в сахарном тростнике – по С4-типу (с образованием 4-углеродных соединений). Это обуславливает различный изотопный профиль сахаров, поэтому для определения фальсификации сахара и этанола возможно применять метод анализа стабильных изотопов Карбона.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, стабильные изотопы,  $\delta^{13}\text{C}$ , сахар, сахарная свекла, сахарный тростник, этанол.

The essential difference between the sugars of various raw materials are the features of the course of photosynthesis in different plants. Photosynthesis in sugar beet occurs C3-type (to form 3-carbon compounds), and sugar cane – C4-type (to form 4-carbon compounds). This leads to a different isotope profile of sugars, and therefore to determine fraud sugar and ethanol may apply the method of analysis of stable isotopes of carbon.

Keywords: ethanol, mass-spectrometry, stable isotopes,  $\delta^{13}\text{C}$ , sugar, sugar beet, sugar cane.

## Постановка проблеми

Джерелом отримання цукру може слугувати різна рослинна сировина в залежності від географічних та кліматичних умов. Для України та інших країн помірної зони клімату характерне вирощування цукрового буряка. В тропічних та екваторіальних країнах з цією метою культивують цукрову тростину, пальму, солод та сорго. У Канаді виробляють м'який кленовий цукор або сироп, що отримують з соку цукрового, червоного або чорного клену.

У сезоні 2013\2014 у світі було виготовлено більше 175 млн. тон цукру [1]. Джерелом для 65% світового виробництва цукру слугує цукрова

тростина, для майже 25% – цукровий буряк, для 10% - інші рослини [2].

Білий рафінований цукор, отриманий з цукрового буряку або тростини, має однакові параметри якості, тому досить складно розрізнити їх за допомогою традиційних методів аналізу. У світі ціна бурякового цукру більша, ніж тростинного. Це обумовлює можливість фальсифікації цукру та продуктів харчування (сиропів, соків, меду, напоїв тощо) шляхом додавання більш дешевого аналогу. З подібною проблемою стикалися в Туреччині, про що свідчать відповідні дослідження[3]. Але в Україні ситуація протилежна: мито на імпортовану цукрову тростину або тростинний цукор до-

## ТЕХНОЛОГІЇ

рівнює 50% від вартості (за даними Національної асоціації цукровиків України, імпорт тростинного цукру за період з вересня 2013 року по червень 2014 року склав 36 тонн), в результаті чого роздрібна ціна тростинного цукру вища бурякового від 40% до 100% (за авторськими даними). Тому фальсифікації цукру відбуваються в протилежному напрямку – заявлений виробником тростинний цукор може бути насправді підфарбованим буряковим.

Суттєвою відмінністю між цукрами з різної сировини є особливості протікання фотосинтезу в різних рослинах. Фотосинтез у цукровому буряку відбувається за  $C_3$ -типом (з утворенням 3-карбонових проміжних сполук), а у цукровій тростині – за  $C_4$ -типом (з утворенням 4-карбонових сполук). Це обумовлює різний ізотопний профіль цукрів, отриманих з цих рослин, в результаті різної кількості в них важкого ізотопу вуглецю –  $^{13}C$ . Для ідентифікації сировини, з якої виготовляється цукор, можливо застосовувати метод аналізу стабільних ізотопів Карбону.

Аналіз останніх досліджень показав, що даною проблемою активно займаються в багатьох країнах, де розроблюються відповідні нормативні документи. Метод аналізу стабільних ізотопів для ідентифікації цукрів у складі фруктових та овочевих соків та напоїв, меду застосовано у таких стандартах: DD ENV 13070:1998, DD ENV 12140:1997, AOAC № 991.41.

**Метою** даної роботи був аналіз ізотопного складу вуглецю ( $^{13}C/^{12}C$ ) цукрів, виготовлених з різної сировини.

### Матеріали та методи

Дослідження аналізу ізотопного складу вуглецю зразків тростинного та бурякового цукру проводився на мас-спектрометрі МІ-1201СГ (Україна) відносно внутрішнього стандарту РЕФ-1 (Німеччина) [4]. Аналітичною формою слугував вуглекислий газ, який виділявся під час реакції зразка з окисом міді ( $CuO$ ) у вакуумованому до 5Па реакторі при температурі  $550^{\circ}C$ . В якості контрольного зразка було використано зовнішній стандарт поліетиленової плівки РЕФ-1.

### Результати дослідження

Для розрізнення різної цукрової сировини використовували відношення стабільного ізотопу вуглецю  $^{13}C$  до  $^{12}C$ . Дане відношення аналізують за допомогою методу мас-спектрометрії.

Для визначення цього відношення застосовували певний стандарт, в якому молярне відношення важкого ізотопу до легкого є фіксованим та постійним. Для аналізу стабільних ізотопів вуглецю використовували стандарт PDB (Pee Dee Belemnite – викопні рештки белемнітів, видобуті в Південній Кароліні, США). Ізотопний склад вуглецю представляли як  $\delta^{13}C$ , що являє собою

відносне відхилення ізотопних відношень  $^{13}C/^{12}C$  зразка від ізотопних відношень  $^{13}C/^{12}C$  стандарту PDB і подавали у проміле (‰) [5, 6]. Дану величину обчислювали за формулою:

$$\delta C = \frac{R_1 - R_2}{R_2} \times 1000 \text{ ‰}, \quad (1)$$

де  $C$  – Карбон,  $R_1$  – це молярне відношення  $^{13}C/^{12}C$  в досліджуваному об'єкті,  $R_2$  – молярне відношення  $^{13}C/^{12}C$  у стандарті [3,7]. Якщо в зразку  $R_1$  відношення ізотопів менше, ніж у стандарті (відношення ізотопів в якому дорівнює 0,0112372 [7]), то значення  $\delta^{13}C$  є від'ємним і його вказують зі знаком «-», а якщо відношення ізотопів  $R_1$  більше, ніж у стандарті – то додатним, і вказують зі знаком «+».

В залежності від організації роботи фотосинтетичного апарату різних рослин значення  $\delta^{13}C$  варіюють:

1. **За циклом Кальвіна, або  $C_3$ -тип** (притаманний для 85% рослин, в тому числі цукровому буряку; первинними продуктами циклу є 3-карбонові сполуки: 3-фосфогліцерінова кислота, 3 фосфогліцеріновий альдегід та фосфодіооксиацетон; значення  $\delta^{13}C$  = -37‰ до -20‰, в середньому від -27‰ до -24‰) [3, с.53].

2. **За циклом Хетча і Слека, або  $C_4$ -тип** (притаманний 500 видам рослин переважно тропічного та субтропічного походження, які фотосинтезують при високих температурах та в посушливих умовах - цукрова тростина, кукурудза, просо, сорго та інші; первинними продуктами є 4-карбонові сполуки: яблунова та аспарагінова кислоти; значення  $\delta^{13}C$  дорівнюють 18‰ до -9‰, в середньому від -16‰ до -12‰) [3, с.53].

3. **За типом кислотного метаболізму товстянкових рослин (CAM - Crassulacean Acid Metabolism)**, який поєднує в собі риси  $C_3$  - та  $C_4$  - типів (характерний для рослин – сукулентів з Родини Товстянкових, значення  $\delta^{13}C$  = від -12‰ до -23‰ і залежить від забезпеченості водою, освітленості та температурного режиму) [3, с.53].

За даними деяких авторів рослинна сировина навіть з однаковим типом фотосинтезу може відрізнятися за значеннями  $\delta^{13}C$  [8,9] (**табл.1**)

В країнах, які виробляють цукор з цукрового буряку, наприклад, в Туреччині, зіткнулися з проблемою фальсифікації бурякового цукру тростинним, що пов'язано з меншою ціною останнього в цій країні. Тому актуальними стають методи, які дозволяють достовірно розрізнити цукри різного походження. В одному з досліджень, проведеному в Туреччині, дослідники вивчали ізотопний склад вуглецю цукрів, зразки якого відбиралися протягом трьох сезонів з 33 цукрових заводів з метою виявити фальсифікації тростинним цукром. В результаті, з 381 дослідженого зразка (які маркувалися як буряковий цукор) 263 зразки були трос-

Ізотопний склад вуглецю різних рослин та рослинної сировини [8, 9]

Об'єкти з C <sub>4</sub> -типом фотосинтезу	δ <sup>13</sup> C,‰	Об'єкти з C <sub>3</sub> -типом фотосинтезу	δ <sup>13</sup> C,‰
Тростинний цукор	-11,99	Буряковий цукор	-25,62
Тростинний цукор (темно-коричневий)	-11,75	Цукроза з буряку	Від -26,4 до -24,3
Тростинний цукор (світло-коричневий)	-11,63	Кленовий цукор	-23,81
Кукурудза	Від -13 до -8	Рисовий сироп	Від -27,4 до -26,1
Сахароза з кукурудзи	Від -12,2 до -10,3	Соя	-25,01
Кукурудзяний сироп	-10,22	Пшениця	Від -26,5 до -23,5

Таблиця 2

Ізотопний склад цукрів з різної сировини, 2014 р.

№ п/п	Зразок	Країна-виробник	δ <sup>13</sup> C,‰
1	Цукор тростинний «Демерара»	Україна	-10,4±
2	Цукор тростинний	Білорусь	-11,7±
3	Цукор тростинний ТМ «Sun Sugar»	Маврікій	-12,2±
4	Цукор тростинний ТМ «Golden Cane»	Маврікій	-11,5±
5	Цукор тростинний «Bio Planet»	Польща	-12,0±
6	Цукор тростинний	Білорусь	-16,9±
7	Цукор буряковий «Вигідна ціна»	Україна	-25±
8	Цукор-пісок	Україна	-25,2±
9	Цукор буряковий «Повна Чаша»	Україна	-24,8±

Таблиця 3

Ізотопний склад етанолу з різної сировини [10]

Сировина	Цукровий буряк	Зерно	Картопля	Цукрова тростина	Кукурудза
δ <sup>13</sup> C,‰	-28 ÷ -26	-26 ÷ -24	-28 ÷ -25	-13 ÷ -11	-13 ÷ -11

тинним цукром (69%). Таким чином, метод аналізу стабільних ізотопів дозволив чітко розрізнити фальсифікації цукру. Результати досліджень були надіслані в прокуратуру для використання в судовій практиці. Як результат, протягом 3 сезону дослідження значно зменшилася кількість випадків фальсифікацій цукру [3].

Для апробації методу стабільних ізотопів Карбону в 2014 році Інститут продовольчих ресурсів НААН України спільно з Інститутом геохімії

навколишнього середовища НАН України провів дослідження ізотопного складу цукрів, виготовлених з різної сировини і різного походження (табл.2). Результати дослідження показують чітке розходження значень δ<sup>13</sup>C між зразками цукру з цукрової тростини та цукрового буряку.

Метод стабільних ізотопів Карбону можливо застосовувати для ідентифікації сировини при виготовленні етанолу. Ринок алкогольних напоїв представляє собою широке поле для фальсифі-

кацій різного роду, в тому числі заміни етилового спирту, виготовленого з буряку, картоплі, пшениці, спиртом з цукрової тростини, як більш дешевої сировини. Економічна складова підроблення стає ще більшою в результаті високої ціни на алкогольні напої, особливо іноземного виробництва.

Дослідження спиртів, виготовлених з різної сировини, показало результати, які відповідають вищенаведеним даним про цукор (табл. 3). Етанол з цукрової тростини та кукурудзи значно відрізняється від етанолу з цукрового буряка, картоплі чи зерна за відношенням  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  [10].

Даний метод широко застосовується в світі, про що свідчать дослідження, проведені на Тайвані, метою яких було розрізнити етанол, вироблений з рисової та тростинної меляси. Результати дозволили чітко ідентифікувати етанол з рисової меляси, значення  $\delta^{13}\text{C}$  якого були  $-27,27 \pm 2,26\%$ . В той час, як значення  $\delta^{13}\text{C}$  етанолу з меляси цукрової тростини дорівнювали  $-11,85 \pm 0,80\%$  [11].

Відповідним чином можливо підтвердити автентичність текилі. Про це свідчать дослідження ізотопного складу текилі, які показали, що значення  $\delta^{13}\text{C}$  варіювали від  $-14,8\%$  до  $-12,1\%$  [12].

Перспективою подальших досліджень є розроблення методик для виявлення фальсифікацій цукру, цукрових домішок у продуктах харчування, фальсифікацій алкогольних напоїв етанолом іншого походження з використанням методу стабільних ізотопів Карбону.

### Висновки

1. Показано, що для ідентифікації цукру з різної сировини – цукрового буряка або цукрової тростини доцільно застосовувати метод аналізу стабільних ізотопів Карбону.

2. Підтверджено, що діапазон значень  $\delta^{13}\text{C}$  для бурякового цукру становить від  $-37$  до  $-20\%$ , для тростинного цукру –  $-18$  до  $-9\%$ .

3. Обґрунтовано використання методу стабільних ізотопів Карбону для аналізу походження етанолу. Етиловий спирт з кукурудзи, цукрової тростини, агави займає діапазон значень  $\delta^{13}\text{C}$  від  $-14,8$  до  $-11\%$ , а з зерна, картоплі, цукрового буряка, рису від  $-28$  до  $-24\%$ .

4. Запропоновано застосовувати метод стабільних ізотопів Карбону при аналізі різних видів цукру та етанолу для виявлення фальсифікацій.

### Список використаних джерел:

1. *Sugar. World market and trade* // United states department of agriculture. Foreign agricultural

service. – May 2014. – Published online. – The way of access: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/Sugar.pdf>

2. *Cagatay Selim Restructuring sugar beet market in Turkey: increasing transfer efficiency via decreasing distortion* / Selim Cagatay, Ozgur Teoman // *New medit.* – 2006. – №3. – P.4-15

3. *Leblebici M. Jale Identification of origin of sugar samples in Turkey by determination of carbon isotope ratio* / M. Jale Leblebici // *Sugar Industry/ Zuckerindustrie.* – 2009. – № 134. – P.629-632

4. *Gerstenberg H. Report on the Intereomparison for the Isotope Standards KH-2 and PEF-1* / H. Gerstenberg, H.Herrman. – 18 p.

5. *Колеснов А.Ю. Масс-спектрометрические исследования состава стабильных изотопов углерода  $^{13}\text{C}$  и  $^{12}\text{C}$  в сахарах различного происхождения* / А.Ю. Колеснов, М.Б. Мойсеяк, А.Г.Талибова // *Сахар.* – 2011. – № 8. – С.39-45

6. *Соботович Э.В. и др. Справочник по изотопной геохимии* / Э.В. Соботович – Москва, Энергоиздат. – 1982. – 140 с.

7. *Ghidini S. Stable isotopes determination in food authentication: a review* / S. Ghidini, A. Ianieri, E. Zanardi, M. Conter, T. Boschetti, P. Iacumin, P.G. Bracchi // *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma.* – 2006. – Vol.XXVI. – P.193-204.

8. *Талибова А. Оценка качества и безопасности пищевой продукции методом изотопной масс-спектрометрии* / А. Талибова, А. Колеснов // *Аналитика.* – 2011. – №1. – С.44-48.

9. *Jahren A. Hope An isotopic method for quantifying sweeteners derived from corn and sugar cane* / A. Hope Jahren, Christopher Saudek, Edwina H. Yeung, WH Linda Kao, Rebecca A. Kraft, Benjamin Caballero // *The American Journal of Clinical Nutrition.* – 2006. – № 84. – P.1380-1384.

10. *Winterova R. Assessment of the authenticity of fruit spirits by gas chromatography and stable isotope ratio analyses* / R. Winterova, Mikulikova R., Mazac J., Havelec P. // *Czech Journal of Food Science.* – 2008. – Vol.26, No.5. – P.368-375.

11. *Rau Y.-H. Using  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Isotopic Ratio Analysis to Differentiate between Rice Spirits Made from Rice and Cane Molasses* / Y.-H. Rau, G.-P. Lin, W.-S. Chang, S.-S. Wen, W. Fu // *Journal of Food and Drug Analysis.* – 2005. – Vol.13, No. 2. – P.159-162.

12. *Aguilar-Cisneros B.O. Tequila authenticity assessment by headspace SPME-HRGC-IRMS analysis of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  ratios of ethanol* / B.O. Aguilar-Cisneros, M.G. López, E. Richling, F. Heckel, P. Schreier // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2002. – Vol. 50, Issue 26. – P.7520-7523.