

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ МЯСА И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ. ОБЗОР

Горбунова Н.А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

Ключевые слова: идентификация географического происхождения, стабильные изотопы, фракционирование изотопов, мясо и мясные продукты

Аннотация

Установление региона происхождения сырья и продуктов животного происхождения для исключения возможности их фальсификации задача достаточно сложная и требует поиска достоверных критериев идентификации, учитывающих влияние геохимических и антропогенных факторов. Одним из методов выявления фальсификации географического происхождения пищевых, в том числе мясных продуктов является метод анализа стабильных изотопов ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) и некоторых других элементов. В обзоре изложены основные теоретические положения исследования стабильных изотопов и их фракционирования, представлены результаты исследований изотопного состава мясного сырья и продуктов животного происхождения для верификации его географического происхождения и систем откорма, в основном, отличающихся содержанием в рационах растений C3 и C4-типов фотосинтеза. Анализ соотношения стабильных изотопов C, N и S обладает значительным потенциалом для аутентификации мясного сырья и продукции для подтверждения региона происхождения, а также может быть использован для определения различия между очень схожими сельскохозяйственными системами выращивания, даже если лежащие в основе механизмы не полностью выяснены.

Review paper

POSSIBILITIES OF USING STABLE ISOTOPES FOR IDENTIFICATION OF GEOGRAPHICAL ORIGIN OF MEAT AND MEAT PRODUCTS. A REVIEW

Nataliya A. Gorbunova

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Key words: identification of geographical origin, stable isotope, fractionation of isotopes, meat and meat products

Abstract

Identification of geographical origin of raw materials and animal-derived products to exclude a possibility of their falsification is quite a complex task, which requires searching for reliable criteria of identification that account for an effect of the geoclimatic and anthropogenic factors. One of the methods for revealing falsification of geographical origin of food including meat products is a method of analysis of stable isotopes ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and several other elements. The review describes the main theoretical provisions of stable isotope analysis and their fractionation, presents the results of the investigation of the isotopic composition of meat raw materials and products of animal origin for verification of their geographical origin and feeding systems that differ largely in the content of C3 and C4 plants in the animal diet. Analysis of the C, N and S stable isotope ratio has a significant potential for authentication of meat raw materials and verification of the origin. In addition, it can be used to detect differences between very similar agricultural production systems, even if the underlying mechanisms are not fully elucidated.

Введение

Задача выявления фальсификации животноводческой продукции, связанной с изменением (искажением) информации о месте происхождения (страны, региона) продукта, является достаточно сложной, но весьма актуальной.

Все большее значение не только для потребителей, но и для добросовестных производителей и дистрибьюторов [1,2,3,4,5,6] приобретает проблема установления подлинности определенного продукта или выявление факта его фальсификации.

Заинтересованность потребителей в решении вопросов подлинности продуктов, которые они покупают, возрастает, особенно в тех случаях, когда речь идет о продуктах премиум-сегмента, включающего органические продукты питания, продукты, соответствующие принципам справедливой торговли (fairtrade products), а также продукты с защищенным обозначением происхождения.

Региональные и традиционные продукты воспринимаются как более полезные и вкусные и пользуются растущим спросом среди потребителей [1].

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Горбунова Н.А. Возможности использования стабильных изотопов для идентификации географического происхождения мяса и мясных продуктов. Обзор. Теория и практика переработки мяса. 2018;3(1):46–58. DOI:10.21323/2414-438X-2018-3-1-46-58

FOR CITATION: Gorbunova N.A. Possibilities of using stable isotopes for identification of geographical origin of meat and meat products. A review. Theory and practice of meat processing. 2018;3(1):46–58. (In Russ.) DOI:10.21323/2414-438X-2018-3-1-46-58

Установление региона происхождения сырья животного происхождения задача достаточно сложная и требует поиска достоверных критериев идентификации, учитывающих влияние геоклиматических и антропогенных факторов. Такими маркерами являются химические элементы и их изотопы, наличие которых в составе тела животного или продуктов животного происхождения [7]:

- определяется химическим составом воды, среды и кормовых объектов;
- зависит от физиологии животного и перераспределения элементов между органами в соответствии с потребностями обмена веществ;
- зависит от биогеохимической обстановки в конкретном субрегионе.

Охрана географических понятий

Охрана географического происхождения продуктов питания (наименование места происхождения товара) вызвана необходимостью воспрепятствовать возможной фальсификации продукта, выделяющегося особыми свойствами из ряда аналогичных. Законодательство Европейского Союза, защищающее такие продукты обеспечивает поддержку разнообразия сельскохозяйственной продукции, экономическую активизацию местного населения и предотвращение его оттока из сельских районов, помощь производителям в получении достойной оплаты за подлинные продукты, устранение недобросовестной конкуренции и исключение обмана потребителей путём продажи поддельной или низкокачественной продукции [1,8].

В настоящее время защита географических указаний и гарантии традиционных особенностей в ЕС регулируются Положением № 1151/2012 Европейского парламента от 21 ноября 2012 года. В России правовые отношения в этой сфере регулируются законом о защите товарных знаков, и ведется реестр наименования мест происхождения товаров Российской Федерации.

В ЕС различают два вида охраняемых географических понятий.

Географическое обозначение происхождения (Protected designation of origin — PDO) предусматривает абсолютное соблюдение рецептуры, использование строго оговоренного исходного сырья и производство продукта исключительно в обозначенном месте региона, где на его изготовление и качественные характеристики влияет географическая среда, климатические особенности и (или) человеческие факторы, подразумевает название региона, используемое для наименования продукта, производимого только в этом регионе. Например, «Parma Ham» (Пармская ветчина) — охраняемое PDO, и согласно установленным требованиям весь технологический процесс производства ветчины должен осуществляться в месте ее происхождения — г. Парма, Италия.

Охраняемое географическое указание (Protected geographical indication — PGI) в основном базируется на признанной репутации данного продукта, которое позволяет, чтобы только один из процессов получения, обработки или приготовления продукта осуществлялся в названном регионе. Например, Байонская ветчина, или байонский жамбон — сыровяленый свиной окорок, производимый в окрестностях Байонны на юго-западе Франции. Продукту присвоен статус PGI с 1998 года.

Среди мясных продуктов с зарегистрированными PDO, PGI, а также гарантией традиционности (TSG) (traditional specialities guaranteed) в ЕС, в качестве примеров можно привести следующие:

Италия — мясные деликатесы: Лардо (Тоскана), Мортаделла (Болонья), Салами S. Angelo (Сицилия), Прошутто (Парма);

Франция — мясные деликатесы: Байонская ветчина, колбаски Boudin blanc de Reims (Петель);

Испания — мясо и изделия из него: Сесина (сыровяленый говяжий окорок), Галисийская ветчина Lason Gallego и многочисленные варианты хамонов;

Великобритания — мясо и изделия из него: вырезка мэнского лохтана, свиной пирог Мелтон Моубрей (Лестершир), сторновейский чёрный пудинг (Внешние Гебридские острова), традиционные камберлендские сосиски (Камберленд).

Методология исследования стабильных изотопов

Установление региона географической принадлежности сырья животного происхождения задача достаточно сложная, так как на физико-химические показатели будут оказывать влияние не только геоклиматические условия, но и антропогенные факторы [9].

На сегодня для определения фальсификаций географического происхождения пищевых продуктов используют, в частности, методы анализа стабильных изотопов ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ и некоторых других элементов). Эти методы позволяют эффективно и достоверно определять как географическое происхождение продукта, так и источник сырья для него (натуральное или полученное в результате химического, биотехнологического или биохимического синтеза) и для продуктов животного происхождения способ откорма животных [2,10,11,12].

Использование методов анализа изотопного состава для выявления фальсификации продуктов питания началось в 1990-х годах. В настоящее время действует несколько документов, признанных Европейской комиссией по стандартизации (European Commission for Normalization) и Ассоциацией официальных химиков-аналитиков (Association of Official Analytical Chemists) по методам анализа стабильных изотопов, например, меда (АОАС — № 991.41), соков (АОАС — № 982.21; JAOAC79 — № 1, 1996; ENV 12142:1996) и др. [13].

Под изотопным составом понимают относительную распространенность изотопов данного элемента,

выраженную обычно в виде отношения мало распространенного изотопа к наиболее распространенному D/H ($^2\text{H}/^1\text{H}$), $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и т.д.

Распределение стабильных изотопов легких элементов в различных биологических и абиотических системах существенно различается. Особенности распределения связаны с процессами фракционирования, то есть с изменением соотношения изотопов в ходе многих биологических и геохимических процессов [14,15]. Способность к термодинамически упорядоченному распределению изотопов в сложных органических соединениях — специфическое свойство живых систем, поэтому изотопное отношение — достаточно достоверный критерий для распознавания биогенных и абиогенных соединений.

Современные исследования доказывают, что изотопы — носители памяти о рождении и преобразовании молекул, а фракционирование изотопов — это химическая история вещества [16]. Стабильные изотопы могут быть использованы как изотопные индикаторы в двух случаях:

- 1) использование их в качестве «внешней метки» при поступлении в живой организм в микроколичествах с пищей, водой, воздухом или лекарственными препаратами;
- 2) при определении соотношений собственных изотопов организма, являющихся внутримолекулярным явлением (так называемая «внутренняя метка»).

Фракционирование изотопов — следствие их физико-химической неравноценности, которая может сказываться либо на скоростях процессов, либо на энергетическом состоянии системы вещества [16].

Для исследований пищевых продуктов наиболее важно фракционирование изотопов углерода при фотосинтезе, а также фракционирование изотопов углерода и азота при биохимической (микробной) трансформации органического вещества. Например, накопление азота ^{15}N в трофических цепях, накопление кислорода ^{18}O в живых системах относительно источника потребляемой воды [2].

Для обозначения изотопного состава принято использовать величину δ , представляющую собой отклонение (обычно в тысячных долях — ‰ (промилле) от условного стандарта [2,3,17]:

$$\delta E = \frac{R_1 - R_2}{R_1} 1000, \text{‰},$$

где E — химический элемент;

R_1 — молярное отношение тяжелых изотопов легких в исследуемом объекте;

R_2 — молярное соотношение тяжелых изотопов легких в стандарте;

‰ — промилле.

Из формулы видно, если в образце отношение изотопов (R_1) меньше, чем в стандарте (то есть образец содержит меньше тяжелых изотопов), то вариация

изотопного состава δ имеет отрицательное значение, и, наоборот, при R_1 большем, чем в стандарте — положительное.

Общепринятые международные стандартные образцы при изотопном анализе приведены в Табл. 1.

Таблица 1. Международные стандарты изотопного состава некоторых химических элементов [18]

Химический элемент	Стандарт	$R_{\text{стандарт}, \text{‰}}$
H	Standard Mean Ocean Water (SMOW) Океаническая вода	0,0001558
C	Pee Dee Belemnite (PDB) Ископаемые остатки белемнитов	0,0112372
N	Atmospheric air (AIR) Атмосферный воздух	0,0036765
O	Standard Mean Ocean Water (SMOW) Океаническая вода	0,0020052
S	Canion Diablo Troilite (CDT) Минерал троилит из метеорита	0,0450045

Фракционирование стабильных изотопов

Фракционирование стабильных изотопов кислорода и водорода происходит при круговороте воды в природе. Океаническая вода имеет в своем составе максимальное значение тяжелых изотопов ^2H и ^{18}O . Во время испарения, за счет большей подвижности легких изотопов, она насыщается ими, а при частичной конденсации наблюдается противоположный процесс обогащения воды тяжелыми изотопами [19].

Фракционирование стабильных изотопов углерода связано преимущественно с типом фотосинтеза растений, различающегося по уровню фракционирования изотопов ^{12}C и ^{13}C (выделяют C_3 , C_4 , и САМ-типы фотосинтеза), при этом углерод биологических объектов обогащается легким изотопом ^{12}C по сравнению с абиотическими [2,20], что позволяет получить ответ на вопрос, состоял ли основной рацион человека или животного преимущественно из C_3 -растений (трава, сено, рис, пшеница, соевые бобы, картофель) или C_4 -растений (кукуруза, сорго или говядина, полученная в результате откорма крупного рогатого скота кукурузой).

Фракционирование изотопов азота обусловлено жизнедеятельностью грунтовых нитрифицирующих микроорганизмов, процессами нитрификации и аммонификации в почве. Довольно интенсивное движение азота в трофических цепях служит причиной значительных, в десятки промилле, различий в $\delta^{15}\text{N}$ в живых организмах [2].

Соотношения стабильных изотопов элементов, которые составляют все биологические ткани, такие как мышечная и жировая, зависит от многих факторов, но некоторые из них тесно связаны с их географическим происхождением [3]. Так, соотношение $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ и $^2\text{H}/^1\text{H}$ в воде зависит от высоты над уровнем моря, расстояния до океанов и климата конкретного региона. Изотопный состав $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$

зависит от состава органических веществ почвы и удобрений.

Один из методов изучения изотопного состава продуктов питания — масс-спектрометрический. Он дает возможность точно дифференцировать массы различных изотопов химических элементов и их соотношения и, как результат, определять по ним, в частности, географическое происхождение продуктов.

Исследования изотопного состава мясного сырья и продуктов животного происхождения

Анализ состава природных стабильных изотопов углерода, азота и серы является одним из потенциальных инструментов для верификации географического происхождения и истории откорма крупного рогатого скота, что связано с тем, что растения и не мигрирующие животные, которые их поедают в качестве корма, потенциально имеют специфичные для региона изотопные составы, определяемые климатическими условиями и условиями окружающей среды. Однако изотопная аутентификация продуктов животного происхождения проблема достаточно сложная, так как сельскохозяйственные животные могут потреблять корма различного происхождения, а также в течение их жизни они могут выращиваться на разных фермах. Кроме того, обширные исследования мяса животных диких видов говорят о том, что большинство биологических и физиологических факторов, оказывающих влияние на изотопный состав тканей животных, еще недостаточно верно интерпретируются [4].

Современные исследования по аутентификации мясного сырья с использованием изотопов легких химических элементов в целом используют два основных подхода:

- анализ соотношения изотопов $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ и $^2\text{H}/^1\text{H}$ применяется для определения регионального происхождения, связанного с региональными климатическими условиями [10];

- анализ соотношения изотопов $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ и $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ применяется в основном для определения компонентов рациона, таких как кукуруза или концентраты [4].

Denadai et al. (2009), оценивая яйца от двух производителей в области Бастос, штат Сан-Паулу (Бразилия), пришли к выводу, что анализ данных стабильных изотопов углерода и азота ($\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$) позволяет отслеживать включение животных компонентов в рацион кур-несушек, путем обнаружения их в белках яиц. Так, при исследовании белка яиц было обнаружено, что один из производителей яиц при кормлении кур использует только растительные компоненты, а другой 1,5 % говяжьего мяса и костной муки [11].

Для оценки возможности определения региона происхождения китайскими учеными было изучено изменение соотношения стабильных изотопов углерода и азота в тканях крупного рогатого скота из различных провинций Китая. Для чего был проведен анализ

59 образцов говядины, жира (crude fat) и волос из хвоста крупного рогатого скота, выращенного в провинциях Цзилинь, Нинся, Гуйчжоу и Хэбэй (Jilin, Ningxia, Guizhou and Hebei provinces in China) с использованием изотопной масс-спектрометрии. Результаты дискриминантного анализа показали, что соотношение $\delta^{13}\text{C}$ наиболее приемлемый показатель для прослеживаемости происхождения крупного рогатого скота, чем $\delta^{15}\text{N}$ для всех исследованных образцов тканей. Успешность классификации может быть значительно повышена путем объединения результатов анализа стабильных изотопов C и N [5].

Дальнейшими исследованиями установлено, что анализ соотношения стабильных изотопов $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ волос из хвоста крупного рогатого скота может быть использован в качестве аналитического инструмента для определения региона происхождения.

Так, для классификации говядины из различных регионов Китая были определены значения $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ и $\delta^2\text{H}$ волос из хвоста 167 голов крупного рогатого скота из семи субрегионов четырех регионов, производящих говядину, которые показали значительные различия. Показатель общей оценки точности классификации (an overall correct classification rate) составил 82,6 % и при перекрестной проверки (cross-validation rate) — 79,6 % для четырех регионов производства говядины, в сравнении с 70,7 % и 70,1 % соответственно для проб семи субрегионов, что показывает потенциальную полезность анализа стабильных изотопов скота хвост волос для создания базы данных прослеживаемости говядины по регионам [21].

Была проверена эффективность анализа изотопов $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ липидного и остаточных фракций белка баранины [22]. Исследования проведены на 120 образцах баранины, произведенной в разных регионах стран: Великобритании, Испании, Франции, Греции, Исландии и Италии. Для оценки региона происхождения мяса использовали канонический дискриминантный анализ, дифференциацию проводили по отношению стабильных изотопов. 79,2 % образцов баранины были изначально классифицированы точно, а перекрестная проверка дискриминантной модели снизила количество верно классифицированных по географическому происхождению образцов до 67 %.

Южноафриканские исследователи использовали потенциал стабильных изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, как маркера для проверки подлинности баранины овец Кагоо, выращиваемых в регионе Кагоо Южной Африки [23]. Потребители ценят баранину Кагоо за качество и уникальные органолептические характеристики (травянистый аромат и вкус), которые, как считается, обусловлены свободным пастбищным выгулом овец, которые питались присущими региону Кагоо душистыми растениями. Для исследования были получены по 10 образцов баранины с семи ферм, каждая из ко-

торых уникальна с точки зрения растительности мест выпаса. Также оценивался изотопный состав растений с мест выпаса, чтобы точно воспроизвести их влияние на ткани животных при фракционировании изотопов в ходе обмена веществ, приводящего к формированию различных соотношений изотопов в различных тканях животного.

Применяя дискриминантный анализ исследователи смогли правильно классифицировать по $\delta^{13}\text{C}$ 97,62 % и по $\delta^{15}\text{N}$ — 96,43 % образцов мяса соответственно в зависимости от типа растений, используемых при кормлении. Исследования доказали, что анализ соотношения стабильных изотопов мяса — перспективный аналитический инструмент для проверки подлинности баранины и оценки мяса по типу питания.

Целесообразность измерения изотопов углерода и азота для дифференциации говядины из Японии, Австралии и Соединенных Штатов, а также говядины, происходящей из Европы подтверждена целым рядом исследователей [24].

Целью совместных исследований ученых Ирландии и Великобритании было изучение стабильных изотопов C, N и S как потенциальных маркеров географического происхождения и способа откорма (традиционное или органическое) для мясного крупного рогатого скота [10].

Для идентификации региона происхождения исследовались образцы бельгийской ($n=2$), нидерландской ($n=3$), французской ($n=2$), немецкой ($n=5$), итальянской ($n=1$), испанской ($n=5$), бразильской ($n=10$) говядины, а также образцы из США (две партии, $n=11$ и 12), кроме того изучались образцы стейков из филейного края или говяжьего бедра от ирландской говядины традиционного ($n=17$) и органического ($n=15$) откорма.

Установлено, что европейская говядина (включая традиционную ирландскую) значительно отличалась от американской говядины на основании анализа состава изотопов C и N. Наблюдаемое большое различие в $\delta^{13}\text{C}$ между европейской и американской говядиной может быть объяснено только противоположными пропорциями растений с типом фотосинтеза C_3 и C_4 в рационах крупного рогатого скота. Средние уровни $\delta^{13}\text{C}$ для традиционных ирландских минус $24,5 \pm 0,7$ ‰ и других европейских минус $21,6 \pm 1,0$ ‰ образцов говядины говорят о преобладании как ингредиентов рациона C_3 растений. В противоположность этому менее отрицательные уровни $\delta^{13}\text{C}$ для североамериканской минус $12,3 \pm 0,1$ ‰ и бразильской минус $10,0 \pm 0,6$ ‰ говядины соответственно отражают почти исключительное использование C_4 кормов, таких как кукуруза или (суб)тропические пастбищные травы.

Эти результаты идентифицируют $\delta^{13}\text{C}$ как простой маркер, который позволяет отличить американскую говядину от европейской. Это, вероятно, более верно для северной Европы, включая Ирландию и Бри-

танию, где преобладают пастбищные системы выращивания и использование C_4 сельскохозяйственной культуры — кукурузы не является общепринятым. Опубликованные независимые измерения $\delta^{13}\text{C}$ мышц и волосяного покрова британского мясного крупного рогатого скота подтверждают это предположение. Однако данное исследование не отражает тот факт, что в центральной и южной Европе существуют системы выращивания мясного КРС, в рационах которых используют значительное содержание кукурузы. Например, уровни $\delta^{13}\text{C}$ в мышцах КРС были в диапазоне от минус 24 ‰ до минус 13 ‰ при исследовании говядины, полученной с 23 ферм в южной Германии, в то время как у мясного скота с контролируемым травным откормом средние уровни $\delta^{13}\text{C}$ составили минус 27 ‰.

Интересно отметить, что соотношение $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ для образцов ирландской традиционной говядины существенно отличалось от этих показателей другой европейской говядины, что свидетельствует о том, что аутентификация происхождения говядины на основе изотопного анализа может работать в меньшем географическом масштабе [10].

В данном исследовании комбинированный анализ изотопного состава C, N и S позволил дифференцировать ирландскую говядину традиционного и органического откорма. Так, традиционная ирландская говядина имела менее отрицательные значения изотопного состава и, более вариабельные уровни $\delta^{13}\text{C}$ по сравнению с органической говядиной минус $24,5 \pm 0,7$ ‰ и минус $26,0 \pm 0,2$ ‰ соответственно, подтверждая, что в традиционной системе откорма используют концентрированные корма в отличие от органической системы выращивания, которая ориентируется на травяные корма, имеющие более отрицательные уровни $\delta^{13}\text{C}$ по сравнению с концентратами.

Традиционная говядина имела более высокие уровни $\delta^{15}\text{N}$, чем органическая, для которых значения этого показателя составили $7,8 \pm 0,4$ ‰ и $6,6 \pm 0,4$ ‰ соответственно. Различия в изотопном составе между органической и традиционной говядиной, частично обусловленные различиями в потреблении вида корма (травы или концентрат), подтверждаются результатами и других исследований [10,12]. Была выдвинута гипотеза, что этот результат отражает кумулятивное обогащение ^{15}N в системе растение-почва за счет минеральных удобрений, вносимых в почву, на которой выпасались выращиваемые в традиционной системе животные. Также нельзя исключать альтернативных объяснений — например, более высокое содержание бобовых в кормах в органических системах откорма.

Кроме того, было отмечено небольшое увеличение величины $\delta^{34}\text{S}$ в образцах органической $7,9 \pm 0,6$ ‰ по сравнению традиционной $7,2 \pm 0,4$ ‰ ирландской говядиной. Причины этого увеличения не достаточно ясны и не согласуются с задокументированными длительными изменениями соотношения $\delta^{34}\text{S}$ в англий-

ской почве при внесении удобрений [25]. Возможно, этот результат отражает использование морских водорослей, которые имеют более высокое содержание ^{34}S по сравнению с наземными источниками, используемыми для обогащения кормов или как удобрение на органических фермах.

Изучение влияния сезонных изменений на содержание стабильных изотопов C, N и S в органической и традиционной ирландской говядины (127 органических, 115 традиционных образцов) показало, что временные ряды соотношения $\delta^{13}\text{C}$ в образцах обычной говядины являлись достоверно неслучайными и обладали отчетливым сезонным положительным сдвигом больше чем 2 ‰ в период с декабря по июнь, в то время как значение $\delta^{13}\text{C}$ в органической говядине было менее изменчивым и значительно более низким. В традиционной говядине значение $\delta^{15}\text{N}$ было чрезвычайно инвариантным (оставаясь близким к 7 ‰) в течение всего года, в то время как органическая говядина была более изменчивой, а также отличалась значительно более низким показателем $\delta^{15}\text{N}$. Содержание изотопов серы ($\delta^{34}\text{S}$) демонстрировало сложную сезонную динамику в обоих видах говядины [12].

Таким образом, в изотопном составе говядины могут иметь место сезонные закономерности, которые, вероятно, отражают изменения в методах кормления животных и определяются скоростью обновления их тканей. Следовательно, сезонные изменения необходимо учитывать при подтверждении подлинности говядины и других продуктов животного происхождения с использованием изотопного анализа.

С целью изучения особенностей содержания стабильных изотопов в мясе в Южной Корее проведено масштабное исследование 599 образцов свинины различного происхождения из 14 стран: 335 образцов из Южной Кореи, 264 — из Южной и Северной Америки (Канада, США, Мексики, Чили), 9 — из европейских стран (Австрии, Голландии, Дании, Франции, Бельгии, Финляндии, Польши, Венгрии, Испании). Исследовалось соотношение стабильных изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ в белках обезжиренного сухого остатка свинины. Анализ показал четкое разделение в происхождении мяса с трех регионов: Южной Кореи, Америки и Европы. Также исследователи выделили близкие по значению результаты $\delta^{13}\text{C}$ для США и Мексики: минус 14,78 и минус 14,81 ‰ соответственно, Голландии и Дании: минус 25,57 ‰ и минус 25,24 ‰ соответственно, что объясняется, вероятно, их географической близостью [26].

Получение достоверных данных по изотопному составу зависит от сравниваемых объектов (ткани и части мясной туши), так как отличия метаболических процессов в различных тканях животных могут приводить к варьированию показателей в значительных пределах. Сравнение образцов жира, белка от 12 ягнят из шести европейских стран по изотопному составу

C и N подтверждает этот тезис. Так, соотношение $\delta^{13}\text{C}$ жира ягнят составило по странам: Великобритания — минус 32,5 ‰, Испания — минус 26,3 ‰, Франция — минус 29,4 ‰, Греция — минус 24,8 ‰, Исландия — минус 31,5 ‰, Италия — минус 28,5 ‰, $\delta^{13}\text{C}$ белка мяса ягнят: минус 26,8 ‰, минус 22,3 ‰, минус 24,0 ‰, минус 21,1 ‰, минус 25,8 ‰, минус 22,7 ‰ соответственно, $\delta^{15}\text{N}$ белка мяса ягнят: 6,3 ‰; 6,6 ‰; 9,1 ‰; 5,75 ‰; 2,5 ‰; 5,7 ‰ соответственно [6].

Учеными Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления и Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН проведен анализ содержания стабильных изотопов углерода и азота в говядине, изучения трофической взаимосвязи проведены исследования изотопного состава углерода в растительности и почве восьми районов Забайкалья. Содержание стабильных изотопов углерода составило в травах минус 27,16 ‰ до минус 27,86 ‰, что соответствует диапазону для биомассы наземных растений C_3 -типа [27].

Полученные данные показали, что содержание стабильных изотопов углерода в мышечной ткани от крупного рогатого скота возрастом 2–3 года из восьми разных районов Забайкалья: Кабанский, Бичурский, Джидинский, Закаменский, Кижингинский, Хоринский, Заиграевский, Агинский составляет от минус 24,28 ‰ до минус 25,84 ‰. Это свидетельствует о том, что все образцы мышечной ткани можно отнести к местному сырью, так как значения $\delta^{13}\text{C}$ не превышают уровень минус 24,0 ‰. Содержание стабильных изотопов азота в исследуемых образцах существенно не отличается и составило от 5,85 ‰ до 7,84 ‰, что в пределах значений, свидетельствующих о преимущественно натуральном корме животных. Обобщение результатов исследований позволило установить, что исследованные образцы мяса, представленные в торговой сети региона, действительно местного производства и относятся к натуральному сырью [27].

Возможна идентификация страны происхождения мясного сырья в готовых продуктах. Так, ученые Бразилии и США измерили соотношения стабильных изотопов $\delta^{13}\text{C}$ и азота $\delta^{15}\text{N}$ в мясной составляющей котлет БигМак, как продукта «глобализации», из двадцати шести стран (Аргентина, Австралия, Австрия, Бразилия, Канада, Китай, Израиль, Германия, США, Япония, Малайзия, Турция, Швеция, Южная Африка, Португалия, Франция, Великобритания и др.) [28].

Исследователи учитывали, что соотношение стабильных изотопов $\delta^{13}\text{C}$ в котлетах БигМак изменяется в диапазоне от минус 11 ‰ (скот кормили исключительно кукурузой или тропическими травами) до минус 25 ‰ (скот кормили растениями C_3 -фотосинтеза: пшеница, соя, травы умеренного пояса). Любые промежуточные значения между этими крайними значениями означали, что скот кормили растениями обеих C_3 и C_4 групп.

Установлено, что значения $\delta^{13}\text{C}$ варьировались от минус 25,4‰ до минус 11,1‰ для исследованных образцов мясной части котлет БигМак, среднее значение $\delta^{13}\text{C}$ для всех стран составило 16,2‰. Наиболее низкие значения $\delta^{13}\text{C}$ обнаружены в образцах из Великобритании (Англия и Шотландия), а самые высокие — из Бразилии. Достаточно высокие различия значений $\delta^{13}\text{C}$ внутри страны было обнаружено в Австралии, так в средние значения $\delta^{13}\text{C}$ мяса котлет БигМак из городов Перт и Сидней составили минус 14,0‰ ($n=4$) и минус 19,6‰ ($n=4$) соответственно. Содержание стабильного изотопа углерода во второй партии образцов котлет БигМак из разных McDonald's Сиднея в среднем составило минус 22,7‰ ($n=3$).

Котлеты БигМак из Японии имели более высокие значения $\delta^{13}\text{C}$, чем ожидалось на основе анализа сельского хозяйства этой страны с растениями C_3 -типа, однако Япония импортирует говядину из Австралии, где распространены растения C_4 -фотосинтеза. Страны с низкими широтами, как правило, имели более высокие значения $\delta^{13}\text{C}$, чем страны более высоких широт, что отражает большее распространение растений C_4 в теплых регионах.

Значения $\delta^{15}\text{N}$ в исследуемых образцах котлет БигМак изменялось от 4,2 до 9,2‰, при средней величине 6,6‰. Образцы котлет из Японии имели наибольшее содержание изотопов ^{15}N , а образцы из Китая — минимальное. Как в случае определения $\delta^{13}\text{C}$ образцы из Ав-

стралии показали значительную вариабельность значений $\delta^{15}\text{N}$, изменявшуюся в диапазоне от 4,2‰ до 8,5‰. Статистически значимых различий в величине $\delta^{15}\text{N}$ котлетах БигМак, купленных в различных странах и сгруппированных по географической широте не обнаружено.

Исследователи, с учетом анализа данных ВТО по импорту говядины, установили, что в большинстве стран, входящих в данное исследование при производстве котлет для котлет БигМак используют говядину местного выращивания, за исключением шести стран, представленных в порядке возрастания импорта говядины: Швеция, Израиль, Португалия, Япония, Малайзия и Нидерланды.

Заключение

В настоящее время в целом ряде стран мира проводятся широкомасштабные исследования по использованию метода анализа стабильных изотопов для определения географического происхождения мяса и мясных продуктов. Анализ проведенных исследований свидетельствует, что изотопный состав продуктов животного происхождения определяется климатическими и географическими условиями (широта нахождения региона, удаленность от моря), кормовой базой скота, а также сезонными изменениями режима откорма. Анализ соотношения стабильных изотопов C, N и S обладает потенциалом как один из инструментов аутентификации мяса.

Introduction

The task of revealing falsification of animal-derived products linked with a change (distortion) of the information about product geographical origin (country, region) is rather complicated but quite topical. The problem of a certain product authentication or revelation of the fact of its falsification has been acquiring an increasing importance not only for consumers but also for responsible producers and distributors [1,2,3,4,5,6].

An interest of consumers in a solution to the problem of product authenticity regarding the foods they buy is especially increased in case of products from the premium segment, which includes organic foods, products corresponding to the principles of fair trade as well as products with protected designation of origin (PDO).

Local and traditional products are perceived as healthier and tastier, and find a growing demand among consumers [1].

Identification of the regional origin of animal raw materials is quite a complicated task and requires a search for reliable identification criteria with consideration for the geoclimatic and anthropogenic factors. The markers are chemical elements and their isotopes, which presence in the animal body and animal products [7]:

— is conditioned by the chemical composition of water, environment and feedstuff;

- depends on the animal physiology and element redistribution between organs according to the metabolic requirements;
- depends on a biogeochemical condition in a certain sub-region.

Protection of geographical terms

Protection of geographical origin of foods (name of regional origin of goods) is caused by a necessity to prevent possible falsification of a product that is distinguished by its specific properties compared to a range of similar products. The European Union legislation that protects such products, supports diversity of agricultural products and economic activation of local population and prevents its outflow from rural areas, assists producers in obtaining decent payments for authentic products and eliminating unfair competition and product deception by sale of falsified or low quality products [1,8].

At present, protection of geographical indications and guarantee of the traditional peculiarities are regulated in the EU by Regulation (EU) No. 1151/2012 of the European Parliament and of the Council of 21 November 2012 on quality schemes for agricultural products and foodstuffs. In Russia, legal relations in this sphere are regulated by the law of trade mark protection, and names of regional origins of goods are recorded in the register of the Russian Federation.

Two protected geographical terms are distinguished in the EU.

Protected designation of origin (PDO) envisions an absolute adherence to a recipe, the use of the strictly specified raw materials and product manufacture exclusively in the designated place of the region, where its production and qualitative characteristics are influenced by the geographic environment, climatic peculiarities and (or) human factors; it is intended to mean the name of a region used for the name of a product produced only in this region. For example, Prosciutto di Parma (Parma Ham) is PDO and according to the established requirements the entire technological process of ham production is to be carried out in the place of its origin (Parma, Italy).

Protected geographical indication (PGI) is largely based on the acknowledged reputation of this product and at least one of the processes of production, processing or preparation of a product is to be carried out in the specified region. For example, Bayonne Ham or Jambon de Bayonne is an air-dried pork ham, which is produced in the area near Bayonne, France. The product was given the PGI status in 1998.

Among meat products with the registered PDO, PGI and TSG (traditional speciality guaranteed) in the EU, the following can be listed as examples:

Italy — meat specialties: Lardo di Colonnata (Tuscany), Mortadella (Bologna), Salame Sant Angelo (Sicily), Prosciutto (Parma);

France — meat specialties: Bayonne Ham, sausage Boudin blanc de Rethel (Rethel);

Spain — meat and meat products: Cecina (air-dried beef), Galician ham Lacon Gallego and many variants of jamón;

the United Kingdom — meat and meat products: Manx Loaghtan loin, Melton Mowbray Pork Pie (Leicestershire), Stornoway black pudding (The Outer Hebrides), traditional Cumberland sausage (Cumberland).

Methodology of stable isotope analysis

Identification of the geographical origin of animal raw materials is quite a complicated task, as not only the geo-climatic but also anthropogenic factors would affect physico-chemical indicators [9].

At present, the methods for analysis of stable isotopes ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ and several other elements) are used to detect falsifications of food geographical origin. These methods allow effective and reliable identification of the geographical origin of a product, its raw material source (natural or obtained as a result of chemical, biotechnological or biochemical synthesis) and a method of animal feeding for animal-derived products [2,10,11,12].

The use of the methods of isotopic composition to establish food falsification began in the 1990s. Nowadays, there are several documents acknowledged by the European Committee for Standardization (CEN) and the As-

sociation of Official Analytical Chemists for the methods of stable isotope analysis, for example, in honey (AOAC — No. 991.41), juices (AOAC — No. 982.21; JAOAC79 — No. 1, 1996; ENV 12142:1996) and others [13].

The isotopic composition is the relative abundances of isotopes of a given element usually expressed as a ratio of low abundant isotope to more abundant (D/H ($^2\text{H}/^1\text{H}$), $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and so on).

Distribution of stable isotopes of light elements in different biological and abiotic systems is significantly different. The peculiarities of distribution are linked with the processes of fractionation; that is, with changes in the isotope ratios in the course of many several biochemical and geochemical processes [14,15]. An ability of thermodynamically ordered isotope distribution in complex organic compounds is a specific property of living systems; therefore, the isotope ratio is quite a reliable criterion for discrimination of biogenic and abiogenic compounds.

Current investigations prove that isotopes are memory carriers regarding the birth and transformation of molecules and isotope fractionation is a chemical history of a substance [16]. Stable isotopes can be used as isotopic indicators in two cases:

- 1) as an «external marker» upon entering into a living organism in micro-quantities with food, water, air or medicines;
- 2) when detecting the ratio of own isotopes of the body, which are intra-molecular phenomenon (so-called «internal marker»).

The fractionation of isotopes is a consequence of their physico-chemical differences, which can affect the velocities of processes or the energy state of a substance system [16].

For food analysis, the most important is fractionation of carbon isotopes upon photosynthesis, fractionation of carbon and nitrogen isotopes upon biochemical (microbial) transformation of the organic matter in soil and accumulation of ^{15}N (and to a lesser degree ^{13}C) in the trophic chains, local distribution of oxygen and hydrogen isotopes in water reservoirs [2].

For notation of the isotopic composition, the δ value is used, which is a deviation (usually in parts per thousand (‰) (permille) from the relative standard [2,3,17]:

$$\delta E = \frac{R_1 - R_2}{R_1} 1000, \text{‰},$$

Where,

E — is a chemical element;

R_1 — is the molar ratio of the heavy to light isotopes in the studied object;

R_2 — is the molar ratio of the heavy to light isotopes in the standard;

‰ — permille.

It can be seen from the equation that if the ratio of isotopes (R_1) in a sample is lower than in the standard (that is a sample contains less heavy isotopes) than the variation of the isotopic composition δ has a negative value; and, on the

contrary, when R_1 is higher than in a standard, the variation is positive.

The generally accepted international standard samples for isotopic analysis are given in Table 1.

Table 1. International standards of the isotopic composition of several chemical elements [18]

Chemical element	Standard	$R_{\text{of standard, \%}}$
H	Standard Mean Ocean Water (SMOW) (Ocean Water)	0.0001558
C	Pee Dee Belemnite (PDB) (Belemnite fossils)	0.0112372
N	Atmospheric air (AIR) (Atmospheric air)	0.0036765
O	Standard Mean Ocean Water (SMOW) (Ocean Water)	0.0020052
S	Canyon Diablo Troilite (CDT) (Mineral troilite from meteorite)	0.0450045

Fractionation of stable isotopes

Fractionation of stable isotopes of oxygen and hydrogen takes place upon water circulation in nature. The ocean water has the maximum value of the heavy isotopes ^2H и ^{18}O . During evaporation, it is saturated with the light isotopes due to their higher mobility, while the opposite process of water enrichment in the heavy isotopes is observed upon partial condensation [19].

Fractionation of the carbon stable isotopes is mainly associated with the type of plant photosynthesis that differs in the level of fractionation of ^{12}C and ^{13}C isotopes (C_3 , C_4 , and CAM photosynthesis types are distinguished). With that, carbon of biological objects is enriched in the light isotope, ^{12}C , compared to abiotic ones [2,20], which allows answering a question whether the main diet of a human or animal consisted largely of C_3 -plants (grass, hay, rice, wheat, soybeans, potato) or C_4 -plants (corn, sorgho or beef from cattle fed with corn).

Fractionation of the nitrogen isotopes is conditioned by the live activities of soil nitrifying microorganisms, processes of nitrification and ammonification in soil. Quite intensive transfer of nitrogen in the trophic chains is a cause of significant (in tens of promille) differences in $\delta^{15}\text{N}$ in living organisms [2].

The ratio of stable isotopes of elements, which are constituents of all biological tissues (such as the muscle and adipose tissues) depends on many factors; however, several of them are closely linked with their geographical origin [3]. For example, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ and $^2\text{H}/^1\text{H}$ ratio in water depends on the elevation above sea level, distance from the oceans and climate of a certain region. Isotopic $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ composition depends on the composition of the organic substances of soil and fertilizers.

One of methods for studying the food isotopic composition is mass-spectrometry, which makes it possible to precisely differentiate masses of different isotopes of chemical elements and their ratio, and as a result, to detect product geographical origin according to them.

Studies of the isotopic composition of meat raw materials and animal-derived products

Analysis of the natural stable isotopes of carbon, nitrogen and sulfur is one of the potential tools for verification of the geographical origin and history of cattle feeding, which is linked with the fact that plants and non-migratory animals that eat those plants potentially have region-specific isotopic compositions influenced by climatic and environmental conditions. However, isotopic authentication of animal-derived products is quite a complicated task as farm animals can eat feeds of different origin and, in addition, can be raised on different farms during their lives. Moreover, numerous studies on meat from wildlife species show that the majority of biological and physiological factors that affect the isotopic composition of animal tissues are still inadequately interpreted [4].

Recent studies on authentication of meat raw materials using isotopes of light chemical elements, in general, rely on two main approaches:

- analysis of the $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ and $^2\text{H}/^1\text{H}$ isotope ratio is used for identification of regional origin associated with climatic conditions of a certain region [10];
- analysis of the $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio is largely applied for determination of dietary components, such as corn or concentrates [4].

Denadai et al. (2009) analyzed eggs from two producers in the area of Bastos, São Paulo State (Brasil) and came to a conclusion that analysis of the stable carbon and nitrogen ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) isotopes allows monitoring the inclusion of animal-derived components into the diets of laying hens by their detection in egg albumen. In analysis of egg albumen, they found that one manufacturer used only plant-based products, while another 1.5 % of bovine meat and bone meal [11].

To assess the possibility of ascertaining the geographical origin, the Chinese scientists studied the changes in the carbon and nitrogen stable isotope ratios in cattle tissues from various Chinese provinces. To this end, they analyzed 59 samples of beef, cattle crude fat and tail hair from Jilin, Ningxia, Guizhou and Hebei provinces using isotope ratio mass spectrometry (IRMS). The results of discriminant analysis demonstrated that the $\delta^{13}\text{C}$ ratio was the most acceptable indicator for cattle origin traceability compared to $\delta^{15}\text{N}$ for all analyzed tissue samples. The success of classification could be significantly improved by combining the results of the analysis of the C and N stable isotopes [5].

The following research established that analysis of the ratio of stable isotopes $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ in cattle tail hair can be used as an analytical tool for identification of geographical origin. For example, to classify beef from different Chinese regions, the $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^2\text{H}$ values were measured in 167 cattle tail hair samples from 7 subregions in four beef producing regions, which showed significant differences. An overall rate of correct classification was 82.6 %, a rate of cross-validation was 79.6 % for four beef producing regions compared to 70.7 % and 70.1 %, respectively, for sev-

en subregions, which suggest the potential for using stable isotope analysis of cattle tail hair samples in order to create beef traceability database by regions [21].

The effectiveness of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ isotope analysis in lipid and residual fractions of lamb protein was verified [22]. The study was carried out on 120 samples of lamb produced in different regions of different countries: the United Kingdom, Spain, France, Greece, Island and Italy. To evaluate the region of meat origin, canonical discriminant analysis was used. The differentiation was carried out by stable isotope ratios. Initially, 79.2 % of lamb samples were classified correctly, while cross-validation of the discriminant model reduced the number of samples that were correctly identified by geographical origin to 67 %.

The South African researchers used the potential of stable isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ as a marker for authentication of lamb from Karoo sheep raised in the Karoo region of South Africa [23]. Consumers highly value Karoo lamb for its quality and unique organoleptic characteristics (grassy aroma and taste), which are thought to be conditioned by the fact that sheep are raised in the free-range systems and eat aromatic Karoo plants. Seven farms, which had unique vegetation, were included into the study.

For analysis, 10 lamb meat samples were taken from each of the seven farms. In addition, the isotopic composition of vegetation from the grazing places were studied to precisely determine their influence on the animal tissues when fractioning isotopes in the course of metabolism, which leads to formation of different isotope ratios in different animal tissues. Using the discriminant analysis, the researchers were able to correctly classify 97.62 % and 96.43 % meat samples by $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, respectively, depending on a type of vegetation used in animal feeding. The study confirmed that analysis of the stable isotope ratio in meat is a promising analytical tool for authentication of lamb meat and for meat assessment by the type of the animal diet.

The expediency of measuring carbon and nitrogen isotopes for differentiation of beef from Japan, Australia, and the USA, as well as beef from Europe was confirmed by several researchers [24].

The aim of the cooperative research of the scientists from Ireland and the UK was to study the C, N and S stable isotopes as potential markers of geographical origin and the method of feeding (conventional or organic) for beef cattle [10].

To identify the regional origin, beef samples from Belgium ($n=2$), the Netherlands ($n=3$), France ($n=2$), Germany ($n=5$), Italy ($n=1$), Spain ($n=5$) and Brazil ($n=10$), as well as the US samples (two lots, $n=11$ and 12) were analyzed. In addition, samples of beef striploin or round steak from Irish conventional ($n=17$) and organic ($n=15$) feeding systems were also included into this study.

It was established that European beef, including conventional Irish beef, differed significantly from American beef according to the analysis of the C and N isotopic compositions. The considerable difference in $\delta^{13}\text{C}$ established for European and American beef was explained by differ-

ent proportions of plants with types of photosynthesis in the cattle diets. Mean $\delta^{13}\text{C}$ values found in the samples of conventional Irish and other European beef (-24.5 ± 0.7 ‰ and -21.6 ± 1.0 ‰, respectively) were attributed to a predominance of C_3 plants as ingredients of the diet, while less negative $\delta^{13}\text{C}$ values in the US and Brazilian beef samples (-12.3 ± 0.1 ‰ and -10.0 ± 0.6 ‰, respectively) were explained by the almost exclusive use of C_4 feed, such as corn or (sub)tropical pasture grasses.

According to these results, $\delta^{13}\text{C}$ was identified as a single marker that allowed differentiation of American beef from European. This is likely more relevant to northern Europe, in particular, Ireland and Britain, where pastoral beef producing systems are dominant, while the use of the C_4 crop, corn, is not common. This hypothesis is confirmed by the published independent $\delta^{13}\text{C}$ measurements in muscles and hair from British beef cattle. However, the study does not reflect the existence in central and southern Europe of beef producing systems, which use the diets with the high content of corn. For example, $\delta^{13}\text{C}$ in cattle muscles were in a range from -24 ‰ to -13 ‰ in an analysis of beef from 23 farms in southern Germany; however, in beef cattle with controlled grass feeding, the $\delta^{13}\text{C}$ mean values were -27 ‰.

It is interesting to note that the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ ratio in the samples of Irish conventional beef differed significantly from these indicators in other European beef, which shows that authentication of beef origin based on the isotopic analysis can be accomplished on the smaller geographical scale [10].

In this study, the combined analysis of the C, N and S isotopic composition allowed differentiation of Irish beef produced in the conventional and organic cattle feeding systems. For example, conventional Irish beef had less negative values of the isotopic composition and more variable $\delta^{13}\text{C}$ values compared to organic beef (-24.5 ± 0.7 ‰ and -26.0 ± 0.2 ‰, respectively), which confirms that the conventional cattle feeding system uses concentrated feed in contrast to the organic farming system oriented toward grass feed with more negative $\delta^{13}\text{C}$ values compared to concentrates.

Conventional beef had higher $\delta^{15}\text{N}$ values compared to organic beef, which were at the level of 7.8 ± 0.4 ‰ and 6.6 ± 0.4 ‰, respectively. The differences in the isotopic composition between organic and conventional beef, which are partly conditioned by the differences in the consumed feed type (grass or concentrate), are confirmed by the results of the other studies [10,12]. It was hypothesized that the obtained results are indicative of the cumulative ^{15}N enrichment in the plant-soil system due to mineral fertilizers introduced into soil, where conventionally raised animals graze. Also, there can be alternative explanations, such as higher legume content in feeds in the organic farming systems.

In addition, a small increase in the $\delta^{34}\text{S}$ value was observed in the samples of organic Irish beef compared to conventional (7.9 ± 0.6 ‰ and 7.2 ± 0.4 ‰, respectively). The reasons for this increase are not fully understood and it does not correspond to the documented long-term chang-

es in the $\delta^{34}\text{S}$ ratio in English soils upon using fertilizers [25]. This result can possibly reflect the use of seaweed with higher ^{34}S content compared to terrestrial sources, which are applied for feed enrichment or as fertilizer in the organic farm systems.

The study of the effect of seasonal changes on the composition of stable isotopes C, N and S in organic and conventional Irish beef (127 organic and 115 conventional samples) demonstrated that the time series of the $\delta^{13}\text{C}$ ratio in the samples of conventional beef were significantly non-random and had a clear seasonal positive shift of more than 2‰ in the period from December to June, while the $\delta^{13}\text{C}$ value in organic beef was less changeable and significantly lower. In conventional beef, the $\delta^{15}\text{N}$ was surprisingly invariant (remaining close to 7‰) during the whole year; organic beef was more variable and was distinguished by lower $\delta^{15}\text{N}$ value. The sulfur isotope composition ($\delta^{34}\text{S}$) demonstrated complex seasonal dynamics in both beef types [12].

Thus, there can be seasonal patterns in the beef isotopic composition, which, possibly, reflect changes in the ways of animal feeding and are conditioned by the rate of their tissue turnover. Therefore, it is necessary to take into account seasonal changes upon authentication of beef and other animal-derived products with the use of isotopic analysis.

To study the peculiarities of stable isotope composition in meat, a large-scale research was done in South Korea with investigation of 599 pork samples of different origin from 14 countries: 335 samples from South Korea, 264 from South and North America (Canada, USA, Mexico, Chile), 9 from European countries (Austria, the Netherlands, Denmark, France, Belgium, Finland, Poland, Hungary and Spain). The ratio of stable isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in proteins of defatted dry pork mass was studied. Analysis demonstrated clear separation of meat from three regions according to its origin: South Korea, America and Europe. Moreover, the researchers revealed close values of $\delta^{13}\text{C}$ for the USA and Mexico (−14.78‰ and −14.81‰, respectively) and for the Netherlands and Denmark (−25.57‰ and −25.24‰, respectively), which can, possibly, be explained by their geographical closeness [26].

Acquisition of reliable data on the isotopic composition depends on comparable objects (tissues and meat carcass parts) as the differences in the metabolic processes in different animal tissues can lead to significant variations in the indicators. Comparison of fat and protein samples from 12 lambs from 6 European countries by the C and N isotopic composition confirms this thesis. For example, the $\delta^{13}\text{C}$ ratio in lamb fat by countries was: −32.5‰ in the United Kingdom, −26.3‰ in Spain, −29.4‰ in France, −24.8‰ in Greece, −31.5‰ in Iceland, −28.5‰ in Italy; $\delta^{13}\text{C}$ in lamb protein was: −26.8‰, −22.3‰, −24.0‰, −21.1‰, −25.8‰, −22.7‰, respectively; $\delta^{15}\text{N}$ in lamb protein was: 6.3‰, 6.6‰, 9.1‰, 5.75‰, 2.5‰, 5.7‰, respectively [6].

The scientists of the East Siberia State University of Technology and the Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the RAS carried out an analysis

of the carbon and nitrogen stable isotope content in beef, a study of the trophic relation and an investigation of the carbon isotopic composition in vegetation and soil of eight regions of the Transbaikal Territory. The stable carbon isotope content in grass was −27.16 to −27.86‰, which corresponded to the range for biomass of terrestrial C_3 plants [27].

The obtained data demonstrated that the stable carbon isotope content in the muscle tissue from cattle at 2–3 years of age from eight different regions of the Transbaikal Territory (Kabansky, Bichurcky, Dzhidinsky, Zakamensky, Kizhigincky, Khorinsky, Zaigraevsky and Aginsky) was in a range from −24.28‰ to −25.84‰. This indicates that all meat tissue samples can be attributed to local raw materials as the $\delta^{13}\text{C}$ values did not exceed the level of −24.0‰. The nitrogen stable isotope content in the studied samples did not differ significantly and was from 5.85‰ to 7.84‰, which is in a range of values that indicate largely natural animal feed. Generalization of the experimental results allowed establishing that all analyzed meat samples presented in the regional retail chain were produced locally and were classified as natural raw materials [27].

It is possible to identify the country of origin of meat raw materials in finished products. For example, the Brazilian and US scientists measured the ratio of the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ stable isotopes in the meat component of Big Mac[®] patties, which are regarded as a product of «globalization», from 26 countries (Argentina, Australia, Austria, Brazil, Canada, China, Israel, Germany, USA, Japan, Malaysia, Turkey, Sweden, South Africa, Portugal, France, UK and others) [28].

The researchers took into consideration that the $\delta^{13}\text{C}$ stable isotope ratio in Big Mac[®] patties would vary in a range from −11‰ (cattle were fed exclusively with corn or tropical grasses) to −25‰ (cattle were fed with C_3 plants: wheat, soybeans and grasses of the temperate belt). The intermediate values between these extreme values showed that cattle were fed with plants of both C_3 and C_4 groups.

It was established that $\delta^{13}\text{C}$ varied from −25.4‰ to −11.1‰ for the analyzed meat part of the Big Mac[®] patties; the overall median $\delta^{13}\text{C}$ value for all countries was −16.2‰. The lowest $\delta^{13}\text{C}$ values were in the sample from the United Kingdom (England and Scotland) and the highest in the samples from Brazil. Quite high differences in the $\delta^{13}\text{C}$ values within a country were found in Australia; for example, the median $\delta^{13}\text{C}$ values in the Big Mac[®] patties from Perth and Sydney were −14.0‰ (n=4) and −19.6‰ (n=4), respectively. The carbon stable isotope content in the second batch of Big Mac[®] patty samples from a different McDonald's outlets in Sydney was on average −22.7‰ (n=3).

Japanese patties had higher $\delta^{13}\text{C}$ values than was expected based on the analysis of the country's agriculture with plants of C_3 type; however, Japan imports beef from Australia, where plants of C_4 type of photosynthesis are common. As a rule, higher $\delta^{13}\text{C}$ values were found in the samples from the lower latitude countries compared to those from the higher latitude countries, which reflects wider distribution of C_4 plants in the warm regions.

The $\delta^{15}\text{N}$ values in the studied samples of Big Mac[®] patties were in a range from 4.2 ‰ to 9.2 ‰ (the median value of 6.6 ‰). The content of ^{15}N isotopes was the highest in the Japanese patty samples and the lowest in the Chinese samples. The samples from Australia showed a significant variability of the $\delta^{15}\text{N}$ values (in a range from 4.2 ‰ to 8.5 ‰), which was similar to the results of $\delta^{13}\text{C}$ measurement. No statistically significant differences were found in the $\delta^{15}\text{N}$ value in the Big Mac[®] patties bought in different countries and grouped by geographical latitude.

Taking into consideration the analysis of the FAO data on beef import, the researchers established that locally produced beef was used for production of Big Mac[®] patties in most countries included in this study except six countries

presented in the order of an increase in beef import: Sweden, Israel, Portugal, Japan, Malaysia and the Netherlands.

Conclusion

At present, large-scale studies on the use of the method of stable isotope analysis are carried out in several countries of the world to identify the geographical origin of meat and meat products. Analysis of the performed research indicates that the isotopic composition of animal-derived products is determined by the climatic and geographical conditions (the geographical latitude of a region, distance from the sea), cattle feeding base as well as seasonal changes in feeding regimes. Analysis of the stable isotope ratio of C, N and S has a potential as one of the tools for meat authentication.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Montowska, M., Pospiech, E. (2012). Is Authentication of Regional and Traditional Food Made of Meat Possible? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 475–487 [Электронный ресурс: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2010.501408>. Дата обращения 20.06.2017]
2. Талибова, А.Г., Колеснов, А.Ю. (2011). Оценка качества и безопасности пищевой продукции методом изотопной масс-спектрометрии. *Аналитика*, 1(1), 44–48.
3. Gandemer, G. (2012). Quality of dry cured ham: Methods for authentication of geographical origin, rearing system and technology. 7th International Symposium on the Mediterranean Pig. Zaragoza: CIHEAM, 535–542.
4. Kelly, J.F. (2000). Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*, 78(1), 1–27.
5. Guo, B.L., Wei, Y.M., Pan, J.R., Li, Y. (2010). Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China. *Food Chemistry*, 118(4), 915–920.
6. Петров, Ф., Демидов, Ю., Жукова, Я. (2014). Идентификация географического происхождения пищевых продуктов по изотопному составу. *Товари и рынки*, 2(18), 24–35.
7. Третьяков, А.В., Абраменкова, О.И., Подколзин, И.В., Соловьев, А.И. (2012). Идентификация географической принадлежности мяса и икры методом химического фингерпринтинга. *Ветеринария сегодня*, 2, 39–46.
8. Знаменская, В.С. (2016). Правовая охрана наименований мест происхождения товаров в России и за рубежом. Автореферат дис. канд. юр.науч. Москва, РГИАИС. — 20 с.
9. Carrijo, A.S., Pezzato, A.C., Ducatti, C., Sartori, J.R., Trinca, L., Silva, E.T. (2006). Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. *Brazilian Journal of Poltry Science*, 8(1), 63–68.
10. Schmidt, O., Quilter, J.M., Bahar, B., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2005). Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, 91(3), 545–549.
11. Denadai, J. C., Ducatti, C., Sartori, J. R., Pezzato, A. C., Mori, C., Gottmann, R., Mituo, M.A.O. (2009). Traceability of bovine meat and bone meal in eggs from laying hens fed with alternative ingredients. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(1), 1–7.
12. Bahar, B., Schmidt, O., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2008). Seasonal variation in the C, N and S stable isotope composition of retail organic and conventional Irish beef. *Food Chemistry*, 106(3), 1299–1305.
13. Recommended methods of analysis and sampling. CODEX STAN234–1999. With amendments adopted by the 30th Session of the Codex Alimentarius Commission. — Published online, 2007. — authenticity [Электронный ресурс: http://www.fao.org/fileadmn/user_upload/agns/pdf/CXS_234e.pdf. Дата обращения 28.07.2017]
14. Галимов, Э. М. (1981). Природа биологического фракционирования изотопов. М, Наука.— 247 с.
15. Чернуха, И.М., Федулова, Л.В., Котенкова, Е.А., Лисицын, А.Б. (2016). Изучение влияния воды с модифицированным изотопным (D/H) составом на репродуктивную функцию, формирование и развитие потомства крыс. *Вопросы питания*, 85(5), 36–43.
16. Лысенко, О. Б., Скульский, Н. А., Шатило, В. Б., Кошлякова, Т. А., Лысенко, М. О., Собонович, Э. В. (2014). Проблемы и перспективы использования внутримолекулярных изотопных соотношений основных биогенных элементов как нового ресурса диагностики патологий разной этиологии. *Живые и биокосные системы*, 8. [Электронный ресурс: <http://www.jbks.ru/archive/issue-8/article-8>, Дата обращения 28.07.2017]
17. Галимов, Э.М., Севастьянов, В.С., Кульбачевская, Е.В., Голявин, А.А. (2004). Идентификация географического места происхождения наркотических веществ на основе изотопного анализа углерода и азота. *Масс-спектрометрия*, 1(1), 31–36.
18. Ghidini, S., Ianieri, A., Zanardi, E., Conter, M., Boschetti, T., Iacumin, P., Bracchi, P.G. (2006). Stable isotopes determination in food authentication: a review. Università di Parma, *Annali Della Facoltà Di Medicina Veterinaria*, XXVI, 193–204.
19. Guillou, C. Reneiro, F. (2001). Isotope methods for the control of food and beverages. *Proceedings of an Advisory Group meeting held in Vienna, 20–23 September 1999 «New approaches for stable isotope ratio measurements»*. Vienna: IAEA, 39–55.
20. Талибова, А.Г., Колеснов, А.Ю. (2010). Выявление происхождения сырья методом масс-спектрометрии. *Мясные технологии*, 3, 52–55.
21. Liu, X, Guo, B, Wei, Y, Shi, J, Sun, S. (2013). Stable isotope analysis of cattle tail hair. A potential tool for verifying the geographical origin of beef. *Food Chemistry*, 140(1–2), 135–140.
22. Piasentier, E., Valusso, R., Camin, F., Versini, G. (2003). Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. *Meat Science*, 64(3), 239–247.
23. Erasmus, S.W., Muller, M., van der Rijst, M., Hoffman, L.C. (2016). Stable isotope ratio analysis: A potential analytical tool for the authentication of South African lamb meat. *Food Chemistry*, 192, 997–1005.
24. Ballin, N.Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577–587.
25. Knights, J. S., Zhao, F. J., Spiro, B., McGrath, S. P. (2000). Long-term effects of land use and fertilizer treatments on sulfur cycling. *Journal of Environmental Quality*, 29(6), 1867–1874.
26. Kim, K.S., Kim, J.S., Hwang, I.M., Jeong, I.S., Khan, N., Lee, S.I., Jeon, D.B., Song, Y.H., Kim, K.S., (2013). Application of stable isotope ratio analysis for origin authentication of pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33(1), 39–44.
27. Жамсаранова, С.Д., Баженова, Б.А., Чимитдоржиева, Г.Д., Забалуева, Ю.Ю. (2017). К вопросу о содержании стабильных изотопов углерода и азота в мышечной ткани крупного рогатого скота, выращенного в различных районах Забайкалья. *Все о мясе*, 5, 34–37.
28. Martinelli, L.A., Nardoto, G.B., Chesson, L.A., Rinaldi, F.D., Omotto, J.P.H.B., Cerling, T.E., Ehleringer, J.R. (2011). Worldwide stable carbon and nitrogen isotopes of Big Mac[®] patties: An example of a truly «global» food. *Food Chemistry*, 127(4), 1712–1718.

REFERENCES

1. Montowska, M., Pospiech, E. (2012). Is Authentication of Regional and Traditional Food Made of Meat Possible? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 475–487 [Electronic resource: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2010.501408>. Access date 20.06.2017]
2. Talibova, A.G., Kolesnov, A.Yu. (2011). Assessment of the quality and safety of food products by the method of isotope mass spectrometry. *Analitika*, 1(1), 44–48. (in Russian)
3. Gandemer, G. (2012). Quality of dry cured ham: Methods for authentication of geographical origin, rearing system and technology. 7th International Symposium on the Mediterranean Pig. Zaragoza: CIHEAM, 535–542.
4. Kelly, J.F. (2000). Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*, 78(1), 1–27.
5. Guo, B.L., Wei, Y.M., Pan, J.R., Li, Y. (2010). Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China. *Food Chemistry*, 118(4), 915–920.
6. Petrov, F., Demikhov, Yu., Zhukova, Ya. (2014). Identification of the geographical origin of products by isotope content. *Products and Markets*, 2(18), 24–35. (In Ukrainian)
7. Tretyakov, A.V., Abramenkova, O.I., Podkolzin, I.V., Solov'yev, A.I. (2012). Identification of geographic origin of meat and caviar using chemical fingerprinting techniques. *Veterinary Science Today*, 2, 39–46. (in Russian)
8. Znamenskaya, V.S. (2016). Legal protection of appellations of origin of goods in Russia and abroad. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Kandidat of Technical Science. Moscow, PGAIS, 20p. (in Russian)
9. Carrijo, A.S., Pezzato, A.C., Ducatti, C., Sartori, J.R., Trinca, L., Silva, E.T. (2006). Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. *Brazilian Journal of Poltry Science*, 8(1), 63–68.
10. Schmidt, O., Quilter, J.M., Bahar, B., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2005). Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, 91(3), 545–549.
11. Denadai, J. C., Ducatti, C., Sartori, J. R., Pezzato, A. C., Mori, C., Gottmann, R., Mituo, M.A.O. (2009). Traceability of bovine meat and bone meal in eggs from laying hens fed with alternative ingredients. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(1), 1–7.
12. Bahar, B., Schmidt, O., Moloney, A.P., Scrimgeour, C.M., Begley, I.S., Monahan, F.J. (2008). Seasonal variation in the C, N and S stable isotope composition of retail organic and conventional Irish beef. *Food Chemistry*, 106(3), 1299–1305.
13. Recommended methods of analysis and sampling. CODEX STAN234–1999. With amendments adopted by the 30th Session of the Codex Alimentarius Commission. — Published online, 2007. — authenticity [Electronic resource: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/CXS_234e.pdf. Access date 28.07.2017]
14. Galimov, E.M. (1981). Nature of biological isotope fractionation. Moscow: Nauka.— 247 p. (in Russian)
15. Tchernuha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A., Lisitsyn, A.B. (2016). The study of the influence of water with modified isotope (D/H) composition on the reproductive function, formation and development of the offspring rats. *Voprosy pitaniya*, 85(5), 36–43. (in Russian)
16. Lysenko, O.B., Skul'skiy, N.A., Shatilo, V. B., Koshliakova, T.A., Lysenko, M.O., Sobotovich, E. V. (2014). Problems and prospects of the main biogenic elements intramolecular isotope correlations using as a new resource of different aetiology pathologies diagnostics. Live and biocose systems, 8. [Electronic resource: <http://www.jbks.ru/archive/issue-8/article-8> Access date 28.07.2017] (in Russian)
17. Galimov, E.M., Sevastyanov, V.S., Kulbachevskaya, E.V., Golyavin, A.A. (2004). The identification of the geographical origin of drugs based on the carbon and nitrogen isotope ratios *Mass-Spektrometria*, 1(1), 31–36. (in Russian)
18. Ghidini, S., Ianieri, A., Zanardi, E., Conter, M., Boschetti, T., Iacumin, P., Bracchi, P.G. (2006). Stable isotopes determination in food authentication: a review. *Universita di Parma: Annali Della Facolta Di Medicina Veterinaria*, XXVI, 193–204.
19. Guillou, S., Reneiro, F. (2001). Isotope methods for the control of food and beverages. *Proceedings of an Advisory Group meeting held in Vienna «New approaches for stable isotope ratio measurements»*. Vienna: IAEA, 39–55.
20. Galimov, A.G., Kolesnov, A.Yu. (2010). Identifying the origin of raw materials by the method of mass spectrometry. *Myasnye tekhnologii*, 3, 52–55. (in Russian)
21. Liu, X., Guo, B., Wei, Y., Shi, J., Sun, S. (2013). Stable isotope analysis of cattle tail hair. A potential tool for verifying the geographical origin of beef. *Food Chemistry*, 140(1–2), 135–140.
22. Piasentier, E., Valusso, R., Camin, F., Versini, G. (2003). Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. *Meat Science*, 64(3), 239–247.
23. Erasmus, S.W., Muller, M., van der Rijst, M., Hoffman, L.C. (2016). Stable isotope ratio analysis: A potential analytical tool for the authentication of South African lamb meat. *Food Chemistry*, 192, 997–1005.
24. Ballin, N.Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577–587.
25. Knights, J. S., Zhao, F. J., Spiro, B., McGrath, S. P. (2000). Long-term effects of land use and fertilizer treatments on sulfur cycling. *Journal of Environmental Quality*, 29(6), 1867–1874.
26. Kim, K.S., Kim, J.S., Hwang, I.M., Jeong, I.S., Khan, N., Lee, S.I., Jeon, D.B., Song, Y.H., Kim, K.S., (2013). Application of stable isotope ratio analysis for origin authentication of pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33(1), 39–44.
27. Zhamsaranova, S.D., Bazhenova, B.A., Chimitdorzhieva, G.D., Zabalueva, Yu.Yu. (2017). Content of stable isotopes of carbon and nitrogen in muscle tissue of the cattle from different areas of the Zabaikal. *Vsyo o myase*, 5, 34–37. (in Russian)
28. Martinelli, L.A., Nardoto, G.B., Chesson, L.A., Rinaldi, F.D., Omotto, J.P.H.B., Cerling, T.E., Ehleringer, J.R. (2011). Worldwide stable carbon and nitrogen isotopes of Big Mac® patties: An example of a truly «glocal» food. *Food Chemistry*, 127(4), 1712–1718.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Горбунова Наталья Анатольевна — кандидат технических наук, Ученый секретарь, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26.
Тел.: +7-495-676-93-17
E-mail: ngorbunova@vniimp.ru

Критерии авторства

Полностью подготовила рукопись и несет ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.11.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Nataliya A. Gorbunova — kandidat of technical sciences, Scientific secretary, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences
109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Tel.: +7-495-676-93-17
E-mail: ngorbunova@vniimp.ru

Contribution

Completely prepared the manuscript and is responsible for plagiarism

Conflict of interest

The author declare no conflict of interest.

Received 08.11.2017