УДК 54.027, 58.009, 638.1

DOI: 10.15372/KhUR2022375

EDN: RICZFQ

^{13}C изотопный анализ медоносных пчел и продуктов пчеловодства: применение и значимость

Г. В. СИМОНОВА, Д. А. КАЛАШНИКОВА

Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск (Россия)

E-mail: galina_simonova@inbox.ru

(Поступила 01.06.21; после доработки 22.11.21)

Аннотация

Проведен анализ изотопного состава углерода ($\delta^{13}C$) в 51 виде медоносных растений Томского района, в 35 образцах пыльцевой обножки, в 77 образцах меда и в 36 образцах подмора пчел, отобранных из разных географических регионов России. Соотношения стабильных изотопов углерода были измерены для выяснения применимости метода изотопной масс-спектрометрии для обнаружения фальсификации меда сахарными сиропами и определения географического происхождения. Выявлено 7 сфальсифицированных образцов меда с помощью метода обнаружения подделок меда, основанном на сравнении изотопного отношения $^{13}C/^{12}C$ в образце меда и в выделенном из меда белке, являющимся внутренним стандартом. Некоторые различия изотопного состава углерода наблюдаются в образцах меда Томской области 2019 и 2020 гг., что указывает на необходимость дальнейшего изучения влияния климатических условий и сезона сбора меда на отношение стабильных изотопов углерода в нем. Изотопный анализ углерода продемонстрировал различия между медом разного географического происхождения. Более высокие значения $\delta^{13}C$ характерны для образцов меда европейской части России и Черноморского региона. Величина $\delta^{13}C$ меда из регионов Сибири с более низкой средней температурой или более высокой влажностью воздуха имеют более низкие значения. Для локальных территорий выявлен “эффект лесного полога”, при котором ИСУ пыльцевой обножки для лесных экосистем обеднен ^{13}C по сравнению с луговыми экосистемами. Определены значения трофического обогащения ($\Delta^{13}C = 1.0 \pm 1.2$ ‰) в цепи “пыльцевая обножка – пчела”.

Ключевые слова: мед, пыльцевая обножка, подмор пчел, изотопный состав углерода

ВВЕДЕНИЕ

Стабильные изотопы углерода встречаются в окружающей среде в естественных условиях, обладают способностью к фракционированию в различных физико-химических процессах, что определяет их уникальность как объекта исследований и позволяет использовать в качестве природных индикаторов при изучении биогеохимических циклов, круговорота загрязнителей, пищевых сетей и изменений, происходящих в экосистемах. В начале 1970-х годов были предприняты первые попытки применения аналитических методик определения стабильных изотопов для установления подлинности пищевых продуктов [1]. Метод изотопной масс-спектрометрии является перспективным, позволяющим доказать фальсификацию или подмену пищевых продуктов даже тогда, когда фальсифицированная продукция по своим химическим и физическим свойствам оказывается идентичной оригинальному продукту. С начала XXI века определение стабильных изотопов стало применяться и для проверки географического происхождения пищевых продуктов, так как стабильные изотопы в составе пищи высту-

© Симонова Г. В., Калашникова Д. А., 2022

пают в качестве средства регистрации условий окружающей среды в зоне происхождения продуктов питания [2]. В 2019 г. Международное агентство по атомной энергии (МАГАТЭ) в сотрудничестве с Продовольственной и сельскохозяйственной организацией Объединенных Наций (ФАО) запустили международный исследовательский проект, направленный на борьбу с фальсификацией продуктов питания и поддержку развития баз данных пищевых продуктов с показателями, соответствующими аутентичным продуктам [3]. И в нашей стране качество, биологическая ценность и экологическая безопасность продуктов питания – важнейшие направления обеспечения качества жизни российских граждан. Согласно Доктрине продовольственной безопасности Российской Федерации одним из положений Стратегии национальной безопасности нашей страны является обеспечение населения качественной и безопасной пищевой продукцией.

Пчелиный мед используется не только как пищевой продукт, но и как лекарственное средство, поэтому необходимо обеспечивать его качество и безопасность. Он является одним из самых чистых продуктов нашей планеты и одним из наиболее часто фальсифицируемых. Добавление тростникового сахара или кукурузного сиропа и неправильная маркировка географического происхождения – распространенные виды мошенничества на рынках меда [4]. В настоящее время исследованию изотопного состава меда [5, 6] и продуктов пчеловодства [7] посвящено много публикаций за рубежом, однако в России подобные исследования единичны [8].

Цель исследования заключалась в проведении комплексного изотопного анализа углерода в цепочке “медоносные растения – пыльцевая обножка медоносных пчел – мед – медоносные пчелы” для определения взаимосвязи между изотопными сигнатурами углерода в данной цепочке, чтобы оценить возможность использования изотопного состава углерода ($\delta^{13}C$) в подморе пчел, в пыльцевой обножке и меде: 1) для выявления географической принадлежности, а также фактов фальсификации меда по географической принадлежности; 2) для выявления поддельного меда, фальсифицированного сахарами. Поскольку анализ происхождения медовой продукции является сравнительной методикой, необходимо развивать референсную базу аутентичных продуктов пчеловодства с целью “прогнозирования” изотопных сигнатур в продуктах пчеловодства из конкретной географической зоны. С этой целью в работе был проанализирован изотопный состав углерода образцов, отобранных в разных регионах России.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

В 2019–2020 гг. образцы пыльцевой обножки, подмора пчел и меда были отобраны непосредственно на пасеках, располагающихся на территории Томской области. Образцы из разных географических регионов России (Алтайского, Приморского и Краснодарского краев, Томской, Кемеровской, Калужской, Новосибирской, Пензенской, Курской, Липецкой и Белгородской областей, республик Адыгея, Башкортостан, Татарстан, Марий Эл, Мордовия и Крым) были приобретены на медовых ярмарках и в медовых магазинах (в Томске и Москве). За два года было собрано 77 образцов меда (49 чистых медов и 28 образцов меда в сотах), 35 образцов пыльцевой обножки и 36 образцов подмора пчел. Также летом 2020 г. и весной 2021 г. был собран 51 образец растений-медоносов.

Методы исследования

Изотопный состав углерода продуктов пчеловодства и растений определяли методом изотопной масс-спектрометрии с использованием изотопного масс-спектрометра DELTA V Advantage, совмещенного с элементным анализатором Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Германия), оснащенного окислительно-восстановительным реактором (приборы предоставлены Томским региональным центром коллективного пользования ТНЦ СО РАН).

Предварительно образцы подмора пчел очищали от мусора и пыльцы и высушивали в сушильном шкафу при 60 °C в течение 48 ч. Образцы меда, пыльцевой обножки и растений-медоносов выдерживали 48 ч в эксикаторе (осушитель P_2O_5). В работе [9] было установлено, что влажность меда не влияет на фракционирование изотопов углерода в меде.

Перед анализом образцы гомогенизировали, после чего навеску образца массой 500–600 мкг помещали в оловянные капсулы (олово высокой степени чистоты). Капсулы с образцами загружали в автосамплер элементного анализатора. Капсула, попадая в нагретый до 1020 °C окислительный реактор, заполненный Cr_2O_3 и Co_3O_4, сжигалась в потоке смеси гелия (70 мл/мин) и

кислорода (180 мл/мин). Полученный CO_2 поступал в восстановительный реактор и далее по капилляру в масс-спектрометр DELTA V Advantage через систему газораспределения Conflo II. Изотопный состав (δ) измеряется в промилле (‰) и определяется по формуле:

$$\delta^{13}C = \left(\frac{R_{sample} - R_{standart}}{R_{standart}} \right) \cdot 1000 \quad (1)$$

где R_{sample} и $R_{standard}$ – отношение количеств тяжелого изотопа к легкому в исследуемом образце и стандарте соответственно. Более подробно метод описан в [9].

Лабораторный рабочий газ сравнения – углекислый газ (CO_2), калибровали по международному стандартному образцу МАГАТЭ IAEA-600 Caffeine ($\delta^{13}C_{VPDB} = -27.771 \pm 0.043$ ‰). Воспроизводимость результатов изотопного анализа газа сравнения составила ±0.02 ‰. Погрешность трех последовательных измерений анализируемых образцов не превышала ±0.2 ‰.

Для обнаружения подделки меда с помощью растительных сахаров был использован официально принятый Ассоциацией аналитической химии метод обнаружения с применением изотопной масс-спектрометрии [10]. Метод заключается в сравнении величин $\delta^{13}C$ чистого меда и экстрагированной из него белковой фракции.

Для статистической обработки данных был использован пакет “Анализ данных” в Microsoft Excel. Основная описательная статистика включала среднее значение (среднее арифметическое), стандартное отклонение, минимум, максимум и диапазон вариации выборки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Изотопный состав углерода медоносных растений Томского района

При исследовании изотопного состава меда важно знать значения ИСУ медоносных растений исследуемой территории. Растения с разным типом фотосинтеза имеют неперекрывающиеся диапазоны вариаций изотопного состава углерода ($\delta^{13}C$). В растениях с С4 типом фотосинтеза величина $\delta^{13}C$ варьируется от −10 до −18 ‰, более легкий изотопный состав у растений с С3 типом фотосинтеза – от −25.5 до −32.0 ‰ [11]. Исследуя изотопный состав углерода медоносных растений Томского района, мы разбили их на группы по времени цветения и по месту произрастания (рис. 1). Цветение медоносных растений рано весной оказывает большое влияние на состояние пасек. После отцветания ив (середина мая) начинается второй период цветения весенних медоносов. Летний период наступает с середины июня, а в конце июля начинается цветение позднелетних медоносов. Результаты анализа ИСУ медоносных растений представлены в табл. 1.

Среднее значение изотопного состава углерода медоносных растений Томского района: $\delta^{13}C = -29.0 \pm 1.9$ ‰. Анализ значений $\delta^{13}C$ медоносных растений показал, что наиболее легкий

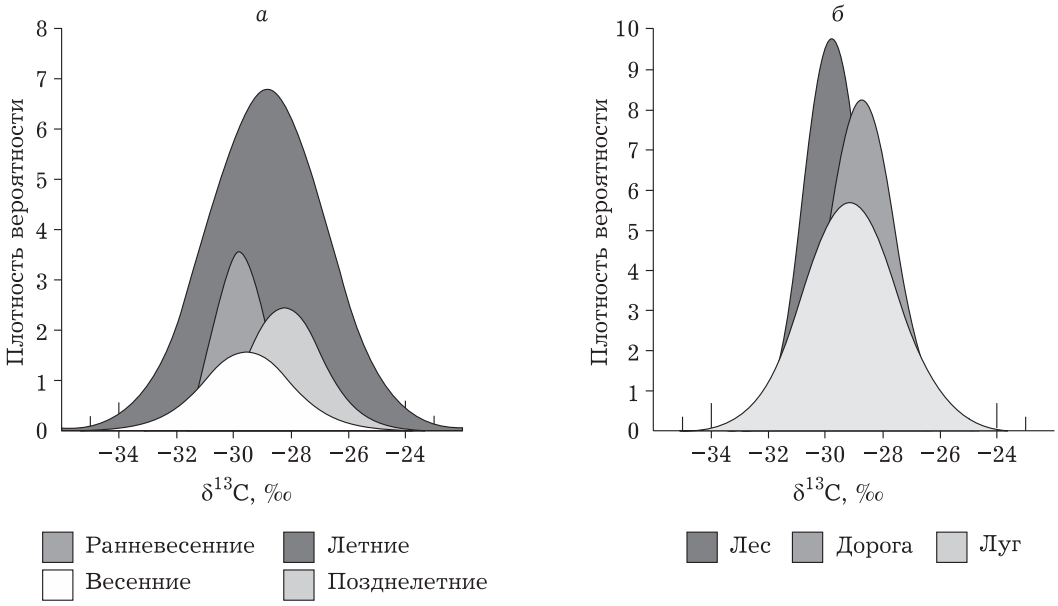

Рис. 1. Кривые нормального распределения Гаусса значений изотопного состава углерода ($\delta^{13}C$) образцов растений Томского района: *а*) по сезонам; *б*) по месту произрастания.

ТАБЛИЦА 1

Изотопный состав углерода ($\delta^{13}C$) медоносных растений Томского района

Вид растений	Медопродуктивность, кг/га [12]	$\delta^{13}C$, ‰
Ранневесенние		
Мать-и-мачеха (*Tussilago farfara L.*)	–	−28.1
Кандык сибирский (*Erythronium sibiricum*)	–	−29.7
Медуница мягкая (*Pulmonaria molliss*)	60−70	−30.2
Хохлатка крупноприцветниковая (*Corydalis bracteata)*	–	−29.4
Первоцвет крупночашечный (*Primula macrocalyx*)	–	−29.2
Фиалка опушенная (*Viola hirta*)	10−40	−31.4
Весенник звездчатый (*Eranthis stellata)*	–	−30.0
Ива козья (*Salix caprea*)	160−200	−30.4
Среднее значение		**−29.8±0.9**
Весенние		
Береза повислая (*Betula pendula*)	–	−30.7
Черемуха обыкновенная (*Prunus padus*) (2021 г.)	–	−29.6
Одуванчик обыкновенный (*Taraxacum officinale*)	–	−28.6
Рябина сибирская (*Sorbus sibirica*)	–	−31.4
Земляника зеленая (*Fragaria viridis*)	30−40	−26.7
Черемуха обыкновенная (*Prunus padus*) (2020 г.)	–	−30.3
Среднее значение		**−29.6±1.7**
Летние		
Крапива глухая (*Lamium album*)	80	−27.4
Рапс (*Brassica napus)*	–	−28.8
Девясил иволистный (*Inula salicina)*	–	−26.9
Борщевик сибирский (*Heracleum sibiricum*)	125−150	−30.7
Василек синий (*Centaurea cyanus*)	–	−30.7
Кипрей узколистный (*Chamaenerion angustifolium*)	300−400	−30.3
Пустырник обыкновенный (*Leonorus cardiaca*)	170−200	−27.1
Огуречная трава (*Borago officinalis*)	200	−33.2
Фацелия пижмолистная (*Phacelia tanacetifolia*)	100−350	−30.8
Кабачок (*Cucurbita pepo*)	–	−27.9
Лук-батун (*Allium fistulosum*)	80−100	−27.2
Огурцы (*Cucumis sativus*)	20	−27.6
Малина обыкновенная (*Rubus idaeus*)	40−50	−26.5
Синяк обыкновенный (*Echium vulgare*)	350−400	−29.3
Донник лекарственный (желтый и белый) (*Melilotus officinalis*)	250−270	−28.5
Чистец болотный (*Stachys palustris)*	до 200	−27.1
Душица обыкновенная (*Origanum vulgare*)	до 85	−27.3
Герань луговая (*Geranium pratense*)	до 80	−24.8
Горошек мышиный (*Vicia cracca*)	до 70	−27.8
Клевер красный (*Trifolium pratense*)	до 150	−27.0
Клевер белый (*Trifolium repens*)	до 60	−29.8
Сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria*)	до 240	−30.4
Таволга вязолистная (*Filipendula ulmaria*)	–	−29.5
Зверобой (*Hypericum*)	–	−30.3
Бодяк разнолистный (*Cirsium heterophyllum*)	80−100	−26.1
Чистотел большой (*Chelidonium majus*)	–	−30.4
Мята колосистая (*Mentha spicata*)	–	−31.1
Пастернак лесной (*Pastinaca sylvestris*)	–	−26.7
Шиповник повислый (*Rosa pendulina*)	–	−28.0

Таблица 1 (Окончание)

Вид растений	Медопродуктивность, кг/га [12]	$\delta^{13}C$, ‰
Чина луговая (*Lathyrus pratensis)*	–	−28.5
Горчица полевая *(Sinapis arvensis)*	–	−30.1
Гречиха обыкновенная (*Fagopyrum esculentum*)	–	−26.2
Короставник полевой (*Knautia arvensis*)	–	−30.6
Молочай острый (*Euphorbia esula*)	–	−34.4
Подорожник большой (*Plantago major*)	–	−30.2
Среднее значение		**−28.8±2.0**
Позднелетние		
Подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus*)	–	−28.1
Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus*)	до 100	−28.5
Лопух войлочный (*Arctium tomentosum*)	–	−27.4
Льнянка обыкновенная (*Linaria vulgaris*)	20–30	−30.1
Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*)	20–26	−27.8
Топинамбур (*Helianthus tuberosus*)	–	−30.4
Осот полевой (*Sonchus arvensis)*	100–350	−27.4
Золотарник обыкновенный (*Solidago virgaurea*)	30–100	−26.2
Среднее значение		**−28.2±1.3**

Примечание. Прочерк – нет данных.

изотопный состав у ранневесенних медоносных растений (величина $\delta^{13}C$ составила −29.8±0.9 ‰), наиболее тяжелый – у позднелетних медоносов (величина $\delta^{13}C$ равна −28.2±1.3 ‰).

Известно, что растения одного и того же вида, произрастающие в различных климатических условиях, имеют разные значения величины $\delta^{13}C$ [13]. Интересно проследить связь изотопного состава растений, произрастающих в одних и тех же климатических условиях, но в местах с разными абиотическими факторами. Для выяснения этого вопроса было отобрано по 25 образцов разных летних растений, произрастающих в лесной зоне, на открытом месте (луг) и вблизи дороги. Стабильные отношения изотопов углерода показали различный диапазон: для лесной зоны величина $\delta^{13}C$ изменялась в диапазоне от −32.5 до −27.8 ‰, а для растений на открытом лугу – в диапазоне от −31.0 до −26.5 ‰ (см. рис. 1, *б*). Среднее значение изотопного состава углерода для растений лесной зоны (−29.8±1.0 ‰) на 1 ‰ легче, чем для растений, произрастающих на открытом месте (−29.1±1.7 ‰). Разность значений величины $\delta^{13}C$ объясняется особенностями фотосинтеза растений в условиях затенения (лесной полог) и фиксацией обедненного тяжелым изотопом углерода (^{13}C) углекислого газа, выделяемого почвой и лесной подстилкой. Этот эффект – эффект локального месторасположения, необходимо учитывать при интерпретации изотопных данных. Средняя величина $\delta^{13}C$ растений, произраставших вблизи дороги, составила −28.7±1.2 ‰. Утяжеление изотопного состава углерода растений, растущих в неблагоприятных условиях (наличие выхлопов автотранспорта, дорожная пыль и т. д.), объясняется обогащением изотопом ^{13}C как за счет угнетения фотосинтеза, так и за счет усиления дыхания.

Изотопный состав углерода в тканях медоносных пчел и продуктах их жизнедеятельности

В табл. 2 представлены результаты анализа ИСУ в подморе пчел и других продуктах пчеловодства. Величина $\delta^{13}C$ всех образцов меда за два года изменяется в диапазоне от −29.0 до −22.3 ‰, величина $\delta^{13}C$ протеина варьируется от −30.5 до −24.3 ‰, величина $\delta^{13}C$ пыльцевой обножки – от −31.2 до −24.3 ‰, а величина $\delta^{13}C$ подмора пчел – от −28.1 до −25.1 ‰ (рис. 2). Минимальное среднее значение величины $\delta^{13}C$ равно −27.2 ‰, максимальный диапазон вариации значений $\delta^{13}C$ зафиксирован в пыльцевой обножке медоносных пчел (6.9 ‰).

Изотопный состав углерода подмора пчел. На рис. 3 представлены результаты анализа изотопного состава углерода тканей медоносных пчел (подмора пчел) нашего исследования в сравнении с исследованиями, проведенными другими авторами. Среднее значение величины

ТАБЛИЦА 2

Основная описательная статистика изотопного состава углерода ($\delta^{13}C$) всех исследуемых образцов

Объект исследования	$\delta^{13}C$, ‰											
	Томская область						Все регионы					
	n	Среднее	СКО	Минимум	Максимум	Диапазон вариации	*n*	Среднее	СКО	Минимум	Максимум	Диапазон вариации
					2019 г.							
Мед	4	−26.5	0.3	−26.8	−26.1	0.7	12	−26.6	1.0	−29.0	−24.9	4.1
Мед в сотах	8	−26.7	0.6	−27.3	−25.9	1.4	12	−26.6	0.9	−27.8	−24.4	3.4
Протеин	11	−26.6	0.6	−27.8	−26.1	1.7	22	−26.4	1.0	−28.9	−24.3	4.6
Пыльцевая обножка	8	−27.4	1.2	−28.8	−25.1	3.7	16	−27.6	1.5	−31.2	−25.1	6.1
Подмор пчел	7	−26.1	0.5	−26.7	−25.1	1.6	15	−26.2	0.4	−26.7	−25.1	1.6
					2020 г.							
Мед	14	−27.2	0.8	−29.0	−25.9	3.1	37	−26.7	1.3	−29.0	−22.3	6.7
Мед в сотах	13	−26.9	0.5	−27.8	−26.0	1.8	16	−27.0	0.5	−27.8	−26.0	1.8
Протеин	27	−27.2	1.1	−30.5	−25.9	4.6	53	−26.9	1.0	−30.5	−24.2	6.3
Пыльцевая обножка	8	−27.1	0.9	−28.2	−25.5	2.7	19	−26.9	1.0	−28.4	−24.3	4.1
Подмор пчел	9	−26.0	0.4	−26.7	−25.6	1.1	20	−26.3	0.8	−28.1	−25.5	2.6
					2019–2020 гг.							
Мед	18	−27.1	0.8	−29.0	−25.9	3.1	49	−26.7	1.2	−29.0	−22.3	6.7
Мед в сотах	21	−26.8	0.5	−27.8	−25.9	1.9	28	−26.8	0.7	−27.8	−24.4	3.4
Протеин	38	−27.0	1.0	−30.5	−25.9	4.6	75	−26.8	1.0	−30.5	−24.2	6.3
Пыльцевая обножка	16	−27.3	1.0	−28.8	−25.1	3.7	35	−27.2	1.3	−31.2	−24.3	6.9
Подмор пчел	17	−26.1	0.5	−26.7	−25.1	1.6	36	−26.3	0.6	−28.1	−25.1	3.0

Примечание. *n* – количество образцов; СКО – среднеквадратическое отклонение.

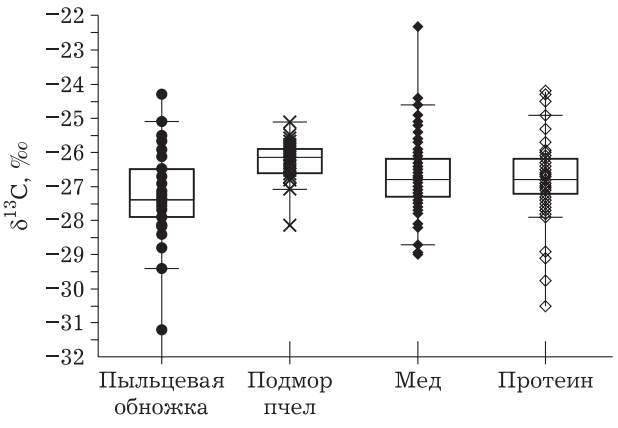

Рис. 2. Диапазоны вариации значений изотопного состава углерода ($\delta^{13}C$) всех исследуемых образцов. Диапазон между первым и третьим квартилем распределения заключен в рамку; вертикальные линии ("усы") на нижнем и верхнем концах оси рамки представляют минимальные и максимальные значения; горизонтальная линия в рамке – среднее значение распределения.

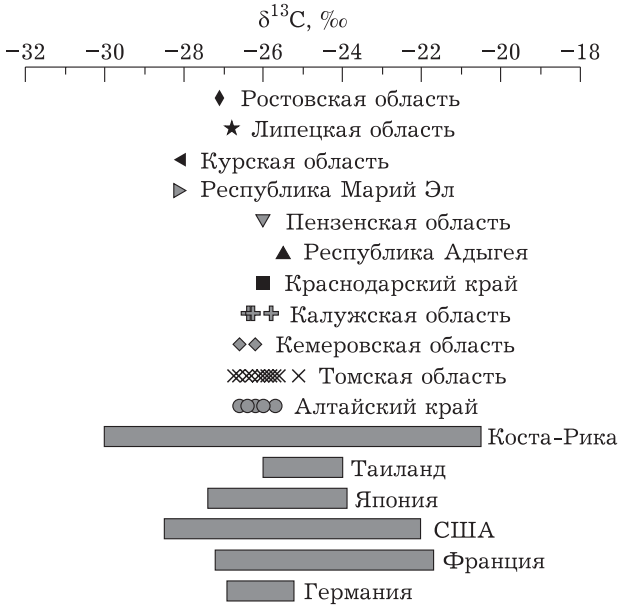

Рис. 3. Диапазоны величин $\delta^{13}C$ проанализированных образцов тканей медоносных пчел по данным наших и других исследований [7, 9, 14–18].

$\delta^{13}C$ подмора пчел для всех исследованных нами географических регионов России равно −26.3±0.6 ‰. Разброс значений $\delta^{13}C$ подмора пчел невелик по сравнению со значениями зарубежных исследователей, что можно объяснить однотипной кормовой базой. Несмотря на то, что в нашей стране насчитывается несколько сотен видов медоносных растений, практическое же значение для пчеловодства имеют несколько десятков из них. Во многих районах Дальнего Востока, Сибири и Урала преобладает естественная кормовая база – дикорастущая медоносная флора.

Для питания пчел нужны белки, жиры и сахара (углеводы). Все эти вещества пчелы находят в цветках растений, так как нектар цветков богат сахаром, а пыльца – белком и жирами. Известно, что изотопный состав углерода в тканях тела потребителя отражает изотопный состав углерода его пищи. В [19] показано, что величина $\delta^{13}C$ потребителя примерно равна величине $\delta^{13}C$ его пищи. Согласно [19], значение трофического обогащения ($\Delta^{13}C$) на основе анализа различных таксонов животных, включая насекомых, относительно невелико и равно 0.8±1.1 ‰.

Работ по исследованию изменения изотопного состава в цепи "растение – пчела" практически нет [17, 20]. Результаты нашего исследования представлены на рис. 2. Среднее значение величины $\delta^{13}C$ образцов подмора пчел равно −26.3 ‰, что на 0.9 ‰ выше среднего значения величины $\delta^{13}C$ пыльцевой обножки, равного −27.2 ‰ (см. рис. 2). Почти для всех парных образцов "пыльцевая обножка + подмор пчел" величина $\delta^{13}C$ подмора пчел выше величины $\delta^{13}C$ пыльцевой обножки. Только для 4 пар наблюдалась обратная картина. Согласно [19], трофическое обогащение может изменяться от −0.3 до +1.9 ‰, поэтому в нашем расчете $\Delta^{13}C$ участвовали все пары "пыльцевая обножка + подмор пчел". Трофическое обогащение $\Delta^{13}C$ в цепи "пыльцевая обножка – пчела" составило 1.0±1.2 ‰, что согласуется с общепринятым значением и подтверждает положение пчелы в трофической цепи "растение – пчела".

Изотопный состав пыльцевой обножки медоносных пчел. Значения изотопного состава углерода пыльцевой обножки для всех исследуемых образцов изменялись от −31.2 до −24.5 ‰, в то время как значения $\delta^{13}C$ для образцов Томского области имели меньший диапазон вариаций от −28.1 до −25.1 ‰ (табл. 3). Вариации значений величины $\delta^{13}C$ пыльцевой обножки обусловлены соотношениями $^{13}C/^{12}C$ в пыльце растений, географическим положением, климатическими условиями и временем цветения растений. Минимальное значение величины $\delta^{13}C$, равное −31.2 ‰, зафиксировано для пыльцевой обножки, собранной во время цветения плюща. Плющ является превосходным медоносом и цветет в сентябре-октябре в Туапсинском районе. Проанализированный изотопный состав углерода цветов плюща показал значение $\delta^{13}C$ = −29.8 ‰, что согласуется с литературными данными (−31.3...−28.1 ‰) [21] и результатом изотопного анализа углерода пыльцевой обножки.

Изотопный состав меда. Значения $\delta^{13}C$ меда, как правило, имеют тенденцию к увеличению с ростом количества солнечных дней и, следовательно, с повышением средней температуры и уменьшением средней влажности [22]. На рис. 4 представлены диапазоны вариаций величины $\delta^{13}C$ проанализированных образцов меда и российских образцов меда, представленных в литературе. Высокие значения $\delta^{13}C$ характерны для образцов меда из регионов с теплым климатом. Низкие величины $\delta^{13}C$ имеют образцы меда из регионов Сибири с более низкой средней температурой и более высокой влажностью воздуха.

Величина $\delta^{13}C$ образцов меда Томской области (по данным за два года) варьируется в диапазоне от −29.0 до −25.9 ‰ (см. табл. 3). Примерно в таком же диапазоне изменяется величина $\delta^{13}C$ образцов меда Алтайского края (−29.5...−26.3 ‰), Кемеровской (−27.7...−25.4 ‰) и Новосибирской (−28.2 ‰) областей (см. рис. 4). Для районов с умеренно континентальным климатом (Калужская, Липецкая, Курская, Пензенская, Белгородская области, Республики Марий Эл, Татарстан, Мордовия) верхняя граница диапазона вариации величины $\delta^{13}C$ выше (−27.8...−24.6 ‰) и среднее значение $\delta^{13}C$ равно −26.1 ‰, что также выше средних значений $\delta^{13}C$ для образцов из Томской (−26.9 ‰) и Кемеровской (−26.8 ‰) областей. Изотопный состав углерода образцов меда из Кавказского региона (Краснодарский край, Республики Крым и Адыгея) изменялся от −26.8 до −24.4 ‰, среднее значение $\delta^{13}C$ образцов меда этого региона составило −25.7 ‰. Для образца из Приморья (умеренный, муссонный климат) также характерен утяжеленный изотопный состав углерода образцов меда (−26.4 ‰).

Изменения средних значений, а также верхней границы диапазона вариаций заметно различаются в зависимости от региона. Однако следует иметь в виду, что также существует изменчивость в пределах каждой отдельной об-

ТАБЛИЦА 3

Изотопный состав углерода ($\delta^{13}C$) в образцах меда и пыльцевой обножки с указанием места расположения пасеки

№ образца	Место отбора	Место приобретения	$\delta^{13}C$, ‰		Расположение пасеки
			Пыльцевая обножка	Мед	
		2019 г.			
	Алтайский край				
1	Красногорский район	Частная пасека	−28.1	−29.0	Луг
2	Краснощековский район	Медовый магазин	−25.5	−26.5	Луг
3	Бийский район	Частная пасека	−29.4	–	–
4	»	»	−26.9	–	–
	Томская область				
5	Шегарский район	Ярмарка	−26.5	−27.3	Луг
6	Асиновский район	»	−25.1	−27.3	Лес
7	Томский район	»	−27.2	−26.8	Лес
8	»	»	−28.4	−26.0	**Лес**
9	Зырянский район	»	−27.7	−26.8	Луг/лес
10	Томский район	»	−28.8	−25.9	Лес
11	»	»	−28.2	–	Лес
12	Шегарский район	»	−27.3	−26.3	Лес
	Кемеровская область				
13	Прокопьевский район	Частная пасека	−25.7	−26.7	Луг
	Калужская область				
14	Малоярославецкий район	Ярмарка	−27.9	−27.8	–
	Краснодарский край				
15	Туапсе	Ярмарка	−27.1	−24.4	Лес
16	»	»	−31.2	−26.1	–
		2020 г.			
	Алтайский край				
17	Поспелихинский район	Медовый магазин	−28.4	−26.4	**Лес**
18	»	»	−26.7	−26.3	**Лес**
19	Солонешенский район	Ярмарка	−27.2	−26.6	**Лес**
	Томская область				
20	Шегарский район	Ярмарка	−27.5	−27.8	**Луг**
21	Асиновский район	»	−28.2	−27.6	Луг/лес
22	Томский район	»	−27.9	−27.3	**Лес**
23	»	»	−27.4	−26.8	Лес
24	Шегарский район	»	−26.7	−27.3	Луг
25	Томский район	»	−25.5	−26.3	**Луг**
26	Зырянский район	»	−27.6	−26.9	Лес
27	»	»	−26.1	−27.1	**Луг**
	Кемеровская область				
28	Киселевский городской округ	Медовый магазин	−27.4	−25.4	**Лес**
	Калужская область				
29	Мещевский район	Ярмарка	−26.7	−27.3	**Луг**
	Республика Татарстан				
30	Кукморский район	Ярмарка	−26.5	−26.5	–
	Республика Марий Эл				
31	Калеево	Ярмарка	−27.4	−26.0	**Лес**
	Курская область				
32	Золотухинский район	Ярмарка	−26.1	−27.4	**Луг**
	Липецкая область				
33	Верховье Дона	Ярмарка	−24.3	−24.6	**Луг**

Таблица 3 (Окончание)

№ образца	Место отбора	Место приобретения	$\delta^{13}C$, ‰		Расположение пасеки
			Пыльцевая обножка	Мед	
	Республика Адыгея				
34	п. Краснооктябрьский	Ярмарка	−28.4	−26.8	**Лес**
	Пензенская область				
35	Сердобский район	Ярмарка	−27.6	−25.7	**Лес**

Примечания. 1. Жирным шрифтом выделены предполагаемые места расположения пасек. 2. Прочерк – не установлено.

ласти. Эта вариативность обычно невелика, но в некоторых случаях может быть значительной (3.1 ‰ в пределах Томской области, 3.2 ‰ для Алтайского края). Такой диапазон разброса значений может быть объяснен либо различными локальными климатическими условиями (даже на небольших расстояниях в районе отбора проб), либо разным временем сбора меда (с разными температурными диапазонами, приводящими к различным значениям $\delta^{13}C$).

В табл. 3 представлены значения $\delta^{13}C$ образцов меда и пыльцевой обножки, а также указано расположение пасек. По информации от пчеловодов, пасеки № 1, 2, 5, 13, 24 расположены в

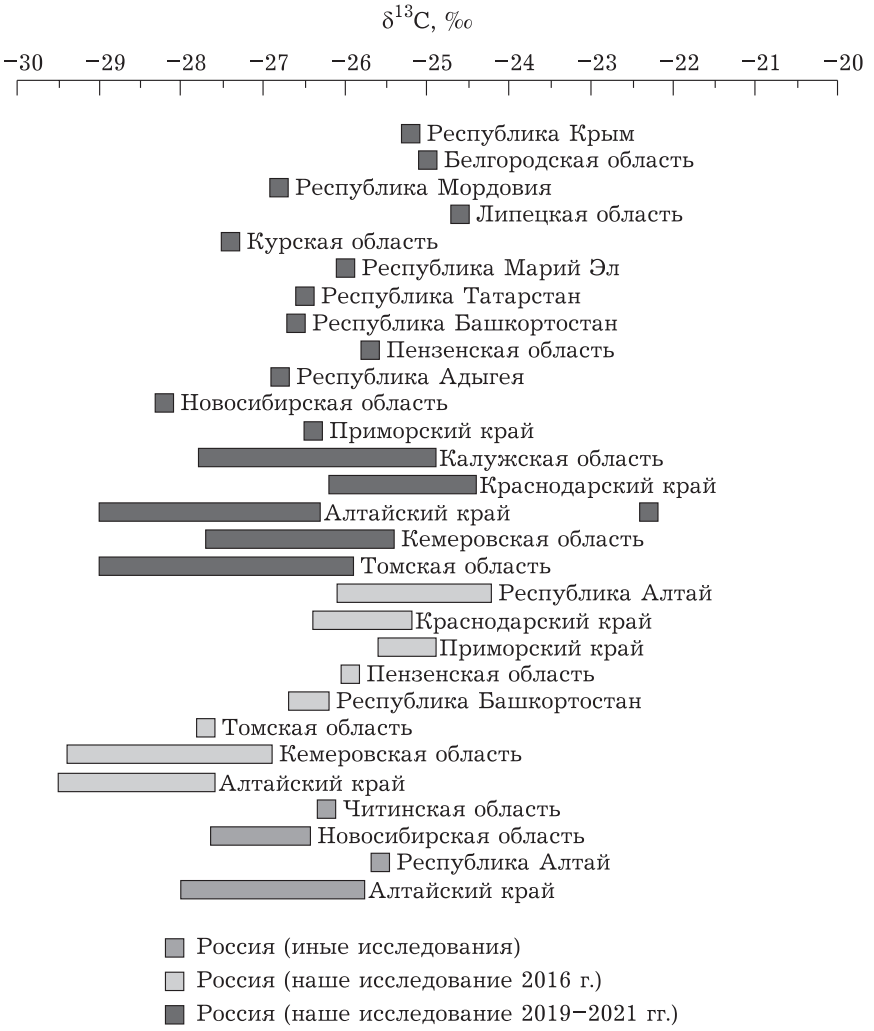

Рис. 4. Диапазоны величин $\delta^{13}C$ образцов меда по данным наших и других исследований [8, 23].

лугах (открытые пространства), пасеки № 6, 7, 10, 11, 12, 15, 23, 26 – в лесах (затененные пространства), а пасеки № 9, 21 – на смешанной территории, где есть и лес, и луг. Значения величины $\delta^{13}C$ образцов пыльцевой обножки с пасек в лесах легче величины $\delta^{13}C$ пыльцевой обножки луговых экосистем. Данное различие можно объяснить так называемым эффектом лесного полога: содержание изотопа ^{13}C в растениях имеет четко выраженный вертикальный градиент в условиях плотного древостоя с минимальным значением в приземном слое (легкий изотопный состав). Это, как уже упоминалось выше, связано с особенностями фотосинтеза растений в условиях затенения (лесной полог) и с поглощением обедненного изотопом ^{13}C углекислого газа, выделяемого почвой и образующегося в результате гниения опавших листьев на лесной подстилке [24, 25]. Также было замечено, что величина $\delta^{13}C$ пыльцевой обножки выше величины $\delta^{13}C$ образцов заявленного лугового меда (№ 1, 2, 5, 13, 24) и ниже величины $\delta^{13}C$ образцов заявленного лесного меда (№ 7, 10, 12, 15, 23, 26). На основании замеченной закономерности можно предположить, что:

1) на пасеках с образцами меда № 9 и 21, для которых указано смешанное расположение, в образцах пыльцевой обножки доминируют растения, произрастающие в лесу;

2) пасеки с образцами меда № 8, 17, 18, 19, 22, 28, 31, 34, 35 расположены в лесных экосистемах;

3) пасеки с образцами меда № 20, 25, 27, 29, 32, 33 расположены в луговых экосистемах.

Сравнительный анализ изотопного состава углерода в образцах натурального меда и выделенной из него белковой фракции

Пчелы обычно собирают нектар с растений с С3 типом фотосинтеза, поэтому натуральный мед имеет значение $\delta^{13}C$ примерно от −28 до −23 ‰ [26]. Разность изотопного состава углерода натурального меда и свекловичного сахара (свекла относится к растениям с С3 типом фотосинтеза, $\delta^{13}C \approx -25.0$ ‰) составляет примерно 1 ‰. Поэтому при разбавлении натурального меда любым количеством сиропа, приготовленного из свекловичного сахара, изотопный состав изменяется незначительно. Однако если натуральный мед разбавить сиропом из сахарного тростника или кукурузы (растения с С4 типом фотосинтеза), то изотопный состав углерода меда будет обогащен тяжелым изотопом углерода ^{13}C (величина $\delta^{13}C$ будет выше −23 ‰). С целью выявления поддельного меда, фальсифицированного сахарами, полученными из растений с С4 типом фотосинтеза, был проведен сравнительный анализ изотопного состава углерода в образцах натурального меда и выделенной из него белковой фракции. Изотопный состав углерода меда и белковой фракции должен иметь одинаковые значения, так как обе эти фракции в натуральном меде формируются из одного источника одновременно. Однако изотопный состав меда при добавлении в него сахарного сиропа изменится, а изотопный состав белковой фракции будет неизменным, поэтому изотопный состав белковой фракции меда принимается за “внутренний стандарт”. Если разность величины $\delta^{13}C$ между медом и экстрагированной из него белковой фракции составляет более 1 ‰, то принято считать данный образец меда фальсифицированным [5, 27]. Также мед считается фальсифицированным, если содержание сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза ($C_{\text{С4 сахар}}$), в образце меда > 7 % согласно следующему уравнению:

$$C_{\text{С4 сахар}} = \frac{\delta^{13}C_{\text{протеин}} - \delta^{13}C_{\text{мед}}}{\delta^{13}C_{\text{протеин}} - (-9.7)} \cdot 100\ \% \qquad (2)$$

где $\delta^{13}C_{\text{протеин}}$ и $\delta^{13}C_{\text{мед}}$ – значения изотопного состава углерода для белковой части меда и для меда соответственно, ‰; −9.7 ‰ – среднее значение $\delta^{13}C$ для кукурузного сиропа.

Кроме того, мед с содержанием сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза, < −7 % также может быть классифицирован как фальсифицированный [28].

Результаты анализа изотопного состава углерода образцов меда и выделенного из него протеина и расчетные величины содержания сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза, представлены в табл. 4.

Для образцов 2019 года сбора была установлена линейная зависимость между величиной $\delta^{13}C$ образцов меда и белковой фракции: $\delta^{13}C_{\text{протеин}} = 0.96\delta^{13}C_{\text{мед}} - 0.93$, $R^2 = 0.82$. Все образцы меда оказались подлинными: значения $\delta^{13}C$ образцов меда < −23 ‰; разность величин $\delta^{13}C$ между медом и экстрагированной из него белковой фракции менее 1 ‰.

Для образцов 2020 года сбора линейная зависимость имеет следующий вид: $\delta^{13}C_{\text{протеин}} = 0.71\delta^{13}C_{\text{мед}} - 7.77$, $R^2 = 0.61$. Образцы меда № 8, 15 и 53 вызывали подозрение при визуальном осмотре: они имели низкую вязкость

ТАБЛИЦА 4

Определение качественного и фальсифицированного меда по средней величине изотопного состава углерода ($\delta^{13}C$) для меда и выделенного из него протеина, а также по расчетной величине содержания сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза ($C_{C4\ сахар}$)

№ образца	Место отбора	$\delta^{13}C$, ‰		$\delta^{13}C_{мед} - \delta^{13}C_{протеин}$, ‰	$C_{C4\ сахар}$, %
		Мед	Протеин		
	2019 г.				
	Алтайский край				
1	Красногорский район	−29.0	−28.9	−0.1	−0.5
2	Рубцовский район	−27.0	−27.2	0.2	1.1
3	Краснощековский район	−26.5	−26.6	0.1	0.6
	Томская область				
4	Шегарский район	−27.3	−27.8	0.5	2.8
5	Асиновский район	−26.7	−26.6	−0.1	−0.6
6	Кожевниковский район	−27.0	−27.4	0.4	2.3
7	Асиновский район	−27.3	−26.7	−0.6	−3.5
8	Томский район	−26.8	−27.0	0.2	1.4
9	»	−26.0	−26.1	0.1	0.6
10	Зырянский район	−26.8	−26.4	−0.4	−2.4
11	Томский район	−25.9	−26.1	0.2	1.0
12	Колпашевский район	−26.1	−26.3	0.2	1.2
13	Шегарский район	−26.3	−26.1	−0.2	−1.2
14	Зырянский район	−26.3	−26.2	−0.1	−0.6
	Кемеровская область				
15	Юргинский район	−27.7	−27.2	−0.5	−2.7
16	Прокопьевский район	−26.7	−25.7	−1.0	−6.3
	Калужская область				
17	Малоярославецкий район	−27.8	−26.9	−0.9	5.2
18	»	−24.9	−24.3	−0.6	−4.1
19	»	−25.6	−24.9	−0.7	−4.6
	Краснодарский край				
20	Туапсинский район	−24.4	−24.5	0.1	0.7
21	»	−26.1	−26.6	0.5	3.0
22	»	−26.2	−26.1	−0.1	−0.6
	2020 г.				
	Алтайский край				
1	Целинный район	−27.2	−27.0	−0.2	−1.3
2	Поспелихинский район	−26.4	−26.5	0.1	0.6
3	»	−26.3	−26.3	0.0	0.0
4	Смоленский район	−28.1	−27.3	−0.8	−4.6
5	Шипуновский район	−27.8	−26.7	−1.1	−6.5
6	Советский район	−28.7	−27.6	−1.1	−6.2
7	Солонешенский район	−26.6	−27.0	0.4	2.3
8	Алтайский край (куплен в Москве)	−22.3	−24.2	**1.9**	**13.1**
	Томская область				
9	Шегарский район	−27.8	−27.4	−0.4	−2.3
10	Асиновский район	−27.6	−27.9	0.3	1.7
11	»	−26.1	−26.2	0.1	0.6
12	Томский район	−27.3	−27.0	−0.3	−1.6
13	»	−29.0	−29.1	0.1	0.7
14	»	−25.9	−25.9	0.0	0.3
15	»	−28.7	−30.5	**1.8**	**8.7**

Таблица 4 (Окончание)

№ образца	Место отбора	$\delta^{13}C$, ‰		$\delta^{13}C_{мед} - \delta^{13}C_{протеин}$, ‰	$C_{C4\ сахар}$, %
		Мед	Протеин		
16	Томский район	−26.8	−26.6	−0.2	−1.2
17	»	−27.2	−27.1	−0.1	−0.5
18	Шегарский район	−27.3	−27.1	−0.2	−1.2
19	Томский район	−26.3	−26.5	0.2	1.2
20	Новониколаевское поселение	−26.9	−26.5	−0.4	−2.4
21	Томский район	−26.6	−26.7	0.1	0.4
22	Асиновский район	−27.3	−27.0	−0.3	−1.7
23	Зырянский район	−26.9	−27.0	0.1	0.6
24	»	−26.9	−26.8	−0.1	−0.6
25	Шегарский район	−26.8	−26.7	−0.1	−0.9
26	»	−26.4	−26.4	0.0	0.0
27	Кривошеинский район	−26.7	−26.9	0.2	1.2
28	Асиновский район	−27.3	−29.8	**2.5**	**12.2**
29	Кривошеинский район	−26.0	−26.2	0.2	1.2
30	Зырянский район	−27.8	−27.9	0.1	0.6
31	»	−27.1	−26.9	−0.2	−1.2
32	»	−26.9	−27.1	0.2	1.2
33	Молчановский район	−26.9	−26.0	−0.9	−5.5
34	Заречный район	−27.1	−26.9	−0.2	−1.2
35	Томский район	−27.6	−27.2	−0.4	−2.3
	Кемеровская область				
36	Юргинский район	−26.5	−26.8	0.3	1.8
37	Киселевский городской округ	−25.4	−24.5	−0.9	−6.1
38	Прокопьевский район	−27.5	−26.9	−0.6	−3.5
	Калужская область				
39	Мещевский район	−27.3	−27.5	0.2	1.1
40	Козельский район	−27.4	−27.7	0.3	1.7
	Приморский край				
41	Приморье	−26.4	−26.1	−0.3	−1.8
	Новосибирская область				
42	Болотнинский район	−28.2	−27.5	−0.7	−3.9
	Республика Татарстан				
43	Кукморский район	−26.5	−26.6	0.1	0.6
	Республика Марий Эл				
44	Калеево	−26.0	−26.5	0.5	3.0
	Курская область				
45	Золотухинский район	−27.4	−27.4	0.0	0.0
	Липецкая область				
46	Верховье Дона	−24.6	−25.3	0.7	4.5
	Республика Адыгея				
47	п. Краснооктябрьский	−26.8	−26.8	0.0	0.0
	Пензенская область				
48	Сердобский район	−25.7	−26.8	**1.1**	**6.4**
49	**Республика Мордовия**	−26.8	−26.9	0.1	0.6
50	**Белгород**	−25.1	−26.1	1.0	6.1
51	**»**	−24.9	−26.1	**1.2**	**7.3**
52	**Республика Крым**	−25.2	−26.3	**1.1**	**6.6**
53	**Республика Башкортостан**	−26.6	−27.8	**1.2**	**6.6**

Примечания. 1. Критерии сфальсифицированных образцов: 1) $\delta^{13}C_{мед} > -23.0$ ‰; 2) $C_{C4\ сахар} > 7$ % и < -7 %; 3) $\delta^{13}C_{мед} - \delta^{13}C_{протеин} > 1$ ‰. 2. Значения, выделенные жирным шрифтом, указывают на образцы меда, которые являются сфальсифицированными.

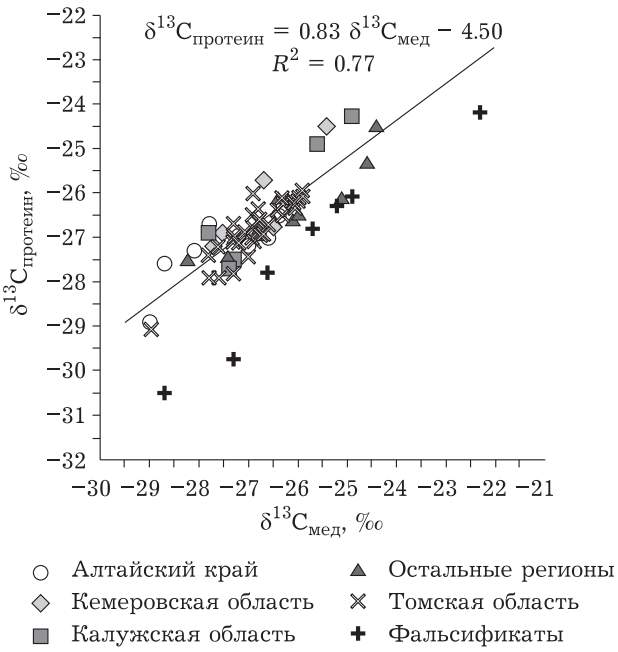

Рис. 5. Зависимость изотопного состава углерода в образцах меда ($\delta^{13}C_{мед}$) от изотопного состава углерода протеина ($\delta^{13}C_{протеин}$), экстрагированного из меда.

как в момент приобретения, так и спустя пару месяцев, – кристаллизация меда, являющаяся важным показателем его качества, не произошла. Контрафактность этих образцов меда была подтверждена разностью величин $\delta^{13}C$ меда и протеина более чем на 1 ‰ (см. табл. 4). Образцы № 8 (Алтайский край) и 53 (Башкортостан) были приобретены в медовом магазине г. Москвы; их географическое происхождение было указано на этикетке. Образец № 15 (Томский район) был приобретен у частного продавца на медовой ярмарке. Для образца № 28 (Асиновский район, Томская область) разность величин $\delta^{13}C$ между медом и протеином составила 2.5 ‰, а процент содержания сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза, равен 12.2 %. Эти два критерия указывают на то, что данный образец поддельный. Образец № 28 был приобретен на медовой ярмарке у частного пасечника. Для образцов № 48 (Пензенская область) и № 52 (Крым) разность значений $\delta^{13}C$ между медом и протеином составила более 1 ‰, однако процент содержания сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза, в данных образцах оказался ниже 7 %. Разность значений $\delta^{13}C$ между медом и протеином образца № 51 (Белгород) составила 1.2 ‰, а процент содержания сахара, полученного из растений с С4 типом фотосинтеза, образца равен 7.3 %. Эти два критерия указывают на то, что данный образец поддельный. Для образцов 2019–2020 годов сбора (данные по фальсифицированным образцам были исключены из расчета) линейная зависимость имеет следующий вид: $\delta^{13}C_{протеин} = 0.83\delta^{13}C_{мед} - 4.50$, $R^2 = 0.77$ (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведен анализ изотопного состава углерода в образцах медоносных растений Томского района. Наиболее тяжелый изотопный состав углерода зафиксирован у позднелетних медоносных растений ($\delta^{13}C = -28.2\pm1.4$ ‰), а наиболее легкий ($\delta^{13}C = -29.8\pm1.0$ ‰) – у ранневесенних, что объясняется разными климатическими условиями в период цветения медоносных растений. Среднее значение $\delta^{13}C = -29.1\pm1.5$ ‰, все исследуемые виды медоносных растений относятся к растениям с С3 типом фотосинтеза.

Вариации изотопного состава углерода подмора пчел во всех исследованных регионах России незначительны по сравнению со значениями зарубежных исследователей, что можно объяснить однотипной кормовой базой. Анализ изотопного состава углерода подмора пчел и пыльцевой обножки медоносных пчел позволил определить значение трофического обогащения ($\Delta^{13}C = 1.0\pm1.2$ ‰) в цепи “пыльцевая обножка – пчела”.

Выявлено влияние “эффекта лесного полога” на изменение величины $\delta^{13}C$ пыльцевой обножки: изотопный состав углерода пыльцевой обножки для лесных экосистем обеднен изотопом ^{13}C по сравнению с луговыми экосистемами.

Показано, что ИСУ меда является географическим маркером его происхождения: значения $\delta^{13}C$ образцов меда для регионов Сибири имеют более низкие значения, чем для образцов меда из европейской части России. Определено среднее значение $\delta^{13}C = -27.1\pm0.8$ ‰ для образцов меда Томской области. Некоторые различия изотопного состава углерода наблюдаются в образцах меда Томской области 2019 и 2020 гг., что указывает на необходимость дальнейшего выявления взаимосвязи между состоянием климатических данных и изотопным составом меда с целью “прогнозирования” изотопных сигнатур в меде из конкретной географической зоны (Томская область).

Проведенные исследования показали перспективность использования стабильных изотопов углерода в продуктах пчеловодства как

маркеров определения их географического происхождения и выявления подделок медовой продукции сахарными сиропами, приготовленными из сахаров, полученных из растений с С4 типом фотосинтеза.

Для установления факта фальсификации меда путем добавления сиропа из сахара, полученного из растений с С3 типом фотосинтеза и инвертированных сиропов, в будущем запланированы исследования с использованием комбинации методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии изотопных отношений, что позволит анализировать сложные смеси углеводов и определять содержания глюкозы, фруктозы и сахарозы в меде.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90016.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Krueger H. W., Reesman R. H. Carbon isotope analyses in food technology // Mass Spectrom. Rev. 1982. No. 1. P. 205–236.
2 Gremaud G., Hilkert A. Isotopic-Spectroscopic Technique: Stable Isotopic Ratio Mass Spectrometry (IRMS) / Modern Techniques for Food Authentication, Da-Wen Sun (Ed.). Elsevier, 2008. P. 269–312.
3 Новый проект МАГАТЭ помогает странам бороться с фальсификацией продуктов питания, 22.05.2019. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.iaea.org/ru/newscenter/pressreleases/novyy-proekt-magate-pomogaet-stranam-borotsya-s-falsifikaciey-produktov-pitaniya (дата обращения: 16.05.2021).
4 Zhou X., Taylor M. P., Salouros H., Prasad S. Authenticity and geographic origin of global honeys determined using carbon isotope ratios and trace elements // Sci. Rep. 2018. Vol. 8. Art. 14639.
5 Simsek A., Bilsel M., Goren A. C. $^{13}C/^{12}C$ pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS // Food Chem. 2012. Vol. 130. P. 1115–1121.
6 Bontempo L., Camin F., Ziller L., Perini M., Nicolin G., Larcher R. Isotopic and elemental composition of selected types of Italian honey // Measurement. 2017. Vol. 98. P. 283–289.
7 Taki H., Ikeda H., Nagamitsu T., Yasuda M., Sugiura S., Maeto K., Okabe K. Stable nitrogen and carbon isotope ratios in wild native honeybees: The influence of land use and climate // Biodivers. Conserv. 2017. Vol. 26. P. 3157–3166.
8 Талибова А., Колеснов А. Оценка качества и безопасности пищевой продукции методом изотопной масс-спектрометрии // Аналитика. 2011. № 1. С. 44–48.
9 Калашникова Д. А., Симонова Г. В. Отношения стабильных изотопов $^{13}C/^{12}C$ и $^{15}N/^{14}N$ в образцах подмора медоносных пчел и в продуктах их жизнедеятельности // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76, № 4. С. 1–10.
10 AOAC Official methods 998.12: C-4 plant sugars in honey. Internal standard stable carbon isotope ratio method. AOAC International, 1998.
11 Farquhar G. D., Ehleringer J. R., Hubick K. T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1989. Vol. 40. P. 503–537.
12 Медопродуктивность от А до Я [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://24medok.ru/medoproduktivnost-rastenij-ot-a-do-ya (дата обращения: 16.05.2021).
13 Rong L., Wang S. J., Du X. L. Research of relation between $\delta^{13}C$ value of common plants and environmental factors in Karst // Environ. Sci. 2008. Vol. 29. P. 2885–2893.
14 Anderson L., Dynes T., Berry J., Delaplane K., Hughes L., Brosi B. Distinguishing feral and managed honeybees (*Apis mellifera*) using stable carbon isotopes // Apidologie. 2014. Vol. 45. P. 653–663.
15 Pat. DE 10344606B4, 2011.
16 Brosi B., Daily G., Chamberlain C., Mills M. Detecting changes in habitat-scale bee foraging in a tropical fragmented landscape using stable isotopes // For. Ecol. Manage. 2009. Vol. 258. P. 1846–1855.
17 Burkhart R. Testing the utility of stable isotope analysis for analyzing bee foraging patterns across habitats: Researh thesis. The Ohio State University, 2017. 27 p.
18 Rankovic A., Geslin B., Perrard A., Barbillon A., Vaury V., Abbadie L., Dajoz I. Urbanization effects on wild bee carbon and nitrogen stable isotope ratios in the Paris region // Acta Oecologica. 2020. Vol. 105. Art. 103545.
19 DeNiro M. J., Epstein S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals // Geochim. Cosmochim. Acta. 1978. Vol. 42. P. 495–506.
20 Hyodo F. Use of stable carbon and nitrogen isotopes in insect trophic ecology // Entomol. Sci. 2015. Vol. 18. P. 295–312.
21 Plant Responses to Elevated CO_2: Evidence from Natural Springs / Raschi A., Miglietta F., Tognetti R., Gardingen P. V. (Eds.). Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1997. 286 p.
22 Schellenberg A., Chmielusa S., Schlicht C., Camin F., Perini M., Bontempo L., Heinrich K., Kelly S., Rossmann A., Thomas F., Jamin E., Horacek M. Multielement stable isotope ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions // Food Chem. 2010. Vol. 121. P. 770–777.
23 Vetrova O. V., Kalashnikova D. A., Melkov V. N., Simonova G. V. Detection of honey adulterations with sugar syrups by stable isotope mass spectrometry // J. Anal. Chem. 2017. Vol. 72, No. 7. P. 756–760.
24 Bonafini M., Pellegrini M., Ditchfield P., Pollard A. Investigation of the 'canopy effect' in the isotope ecology of temperate woodlands // J. Archaeol. Sci. 2013. Vol. 40. P. 3926–3935.
25 Merwe N. V. D., Medina E. The canopy effect, carbon isotope ratios and foodwebs in Amazonia // J. Archaeol. Sci. 1991. Vol. 18. P. 249–259.
26 Cerling T., Barnette J., Bowen G., Chesson L., Ehleringer J., Remien C., Shea P., Tipple B., West J. Forensic stable isotope biogeochemistry // Annu. Rev. Earth Planet. Sci. 2016. Vol. 44. P. 175–206.
27 White J. W., Winters K. Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration of honey // Journal of AOAC International. 1989. Vol. 72. P. 907–911.
28 Dong H., Luo D., Xian Y., Luo H., Guo X. D., Li C., Zhao M. Adulteration identifcation of commercial honey with the C-4 sugar content of negative values by an elemental analyzer and liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectroscopy // J. Agric. Food Chem. 2016. Vol. 64. P. 3258–3265.