



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544:577.115.3

doi: 10.17308/sorpchrom.2025.25/12796

Изучение различных методологических подходов к извлечению жирнокислотной фракции из сложной биологической матрицы и идентификация её состава с помощью хромато-масс-спектрометрии

Юрий Олегович Веляев^{1✉}, Александра Валентиновна Бородина²,

Константин Андреевич Пименов^{1,2}, Александр Рузвельтович Осокин¹

¹Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия, velyaevyo@yandex.ru[✉]

²Институт Биологии Южных Морей РАН, Севастополь, Россия

Аннотация. Проведено изучение жирнокислотного состава биологической матрицы, полученной на основе экстракции липидов из двустворчатого моллюска *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), широко распространенного в Чёрном море, в том числе на севастопольском его побережье. Экстракция липидной фракцией проводилась двумя методами: методом Фолча и методом Бляя-Дайера. Пробоподготовка к проведению хромато-масс-спектрометрического исследования образцов в обоих случаях была одинаковая и максимально щадящая в плане длительности температурного режима и агрессивности химических реагентов с целью максимального сохранения нативной структуры выделенного из тканей моллюска жирнокислотного экстракта. В результате проведения анализа в тканях *P. aurea* всего было выявлено 14 насыщенных жирных кислот, в том числе: 12-Ме-13:0, 12-Ме-14:0, 14-Ме-16:0 и 20-Ме-21:0, 5 МНЖК и 9 ПНЖК. Из этих кислот было идентифицировано четыре омега-3, четыре омега-6 и четыре омега-9 кислоты. Наиболее ценными ПНЖК являются: 18:4n-3,6,9,12, 18:2n-6,9, 20:4n-6,9,11,14, 20:5n-3,6,9,12,15 и 22:6n-3,6,9,12,15,18. Также был обнаружен ряд стеринов. Результаты показали, что метод Фолча даёт большее извлечение веществ липидной природы, чем метод Бляя-Дайера, что может быть объяснено большим химическим сродством получаемого методом Фолча экстрагента по отношению к нативным липидам изучаемого моллюска.

Ключевые слова: экстракция, липиды моллюсков, стерины, жирные кислоты, дериватизация, метиловые эфиры жирных кислот, газовая хромато-масс-спектрометрия.

Благодарности: работа выполнена в рамках госзадания Министерства науки и высшего образования РФ, проект № FEFM-2023-0005 (№ гос. регистрации 123021300156-4). Часть этой работы также выполнена в рамках государственного научного задания ФИЦ ИнБиОМ РАН «Функциональные, метаболические и молекулярно-генетические механизмы адаптации морских организмов к условиям экстремальных экотопов Черного и Азовского морей и других акваторий Мирового океана.» (№ 124030100137-6).

Для цитирования: Веляев Ю.О., Бородина А.В., Пименов К.А., Осокин А.Р. Изучение различных методологических подходов к извлечению жирнокислотной фракции из сложной биологической матрицы и идентификация её состава с помощью хромато-масс-спектрометрии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2025. Т. 25, № 1. С. 73-89. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2025.25/12796>

Original article

The study of various methodological approaches to the extraction of fatty acid fraction from a complex biological matrix and the identification of its composition using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)

Yuri O. Velyaev^{1✉}, Alexandra V. Borodina²,

Konstantin A. Pimenov^{1,2}, Alexander R. Osokin¹

¹Sevastopol State University, Sevastopol, Russia, yovelyaev@yandex.ru[✉]

²Institute of Biology of the South Seas of the Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia



Annotation. The fatty acid composition of the biological matrix obtained on the basis of lipid extraction from the bivalve mollusk *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), widely distributed in the Black Sea, including on its Sevastopol coast, was studied. Lipid fraction extraction was carried out by two methods: the Folch method and the Bligh-Dyer method. Sample preparation for gas chromatography with mass spectrometry (GC/MS) examination of samples in both cases was the same and as gentle as possible in terms of the duration of the temperature regime and the aggressiveness of chemical reagents in order to maximize the preservation of the native structure of the fatty acid extract isolated from the tissues of the mollusk. As a result of the analysis, a total of 14 saturated fatty acids were detected in the tissues of *P. aurea*, including: 12-Me-13:0, 12-Me-14:0, 14-Me-16:0 and 20-Me-21:0, 5 SFAs and 9 PUFAs. Of these acids, four omega-3, four omega-6 and four omega-9 acids have been identified. The most valuable PUFAs are: 18:4n-3,6,9,12, 18:2n-6,9, 20:4n-6,9,11,14, 20:5n-3,6,9,12,15 and 22:6n-3,6,9,12,15,18. A number of sterols have also been found. The results showed that the Folch method provides a greater extraction of substances of a lipid nature than the Bligh-Dyer method, which can be explained by the greater chemical affinity of the extractant obtained by the Folch method in relation to the native lipids of the studied mollusk.

Keywords: extraction, shellfish lipids, sterols, fatty acids, deprivation, methyl esters of fatty acids, gas chromatography with mass spectrometry.

Acknowledgements: the work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, project № FEFM-2023-0005 (state registration № 123021300156-4). Part of this work was also carried out within the framework of the state scientific assignment of the IBSS "Functional, metabolic and molecular genetic mechanisms of adaptation of marine organisms to the conditions of extreme ecotopes of the Black and Azov Seas and other waters of the World Ocean." (№ 124030100137-6).

For citation: Velyaev Yu.O., Borodina A.V., Pimenov K.A., Osokin A.R. The study of various methodological approaches to the extraction of fatty acid fraction from a complex biological matrix and the identification of its composition using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2025. 25(1): 73-89. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorchrom.2025.25.12796>

Введение

Изучение липидного состава различных биологических объектов является на сегодняшний день достаточно актуальной задачей, особенно в контексте пищевого сырья, являющегося источником ценных и биологически важных для человека компонентов, к которым относятся, например, жирные кислоты (далее – ЖК). Поставщиком данного типа веществ являются либо масла, отжатые из некоторых растительных культур, таких как ядра подсолнечника, либо гидробионты, которые могут быть насыщены необходимыми жирными кислотами в различных соотношениях, которые во многом зависят от факторов их окружающей среды и их источников питания. Логичным является изучение возможности по получению нужного жирнокислотного состава в тканях моллюска в результате специфического его питания.

Для двустворчатых моллюсков, которые являются одним из наиболее часто встречающихся в сублитеральной зоне

морского побережья, встречается несколько типов питания, к которым относится детрит, куда входят инфузории, и бесцветные жгутиконосцы является источником насыщенных и мононенасыщенных C14-C18 жирных кислот, и бактериальная flora, содержащая в большом количестве насыщенные C14-C16 кислоты [1,2]. Соответственно, жирнокислотный состав данного моллюска, который актуален, например, при употреблении его в пищу, будет отличаться в зависимости от предпочтения типа его питания, поскольку в нём будут оставаться и исходные жирные кислоты и произведённые в биохимических циклах, преобладающих с учётом разницы исходного питания. Также жирнокислотный состав гидробионта будет зависеть и от воздействия на него факторов окружающей среды, например, солёности или температуры морской воды, в которой он обитает [3,4]. Так, например, при воздействии низких температур (от 0 до +3°C) у мидий *M. edulis* наблюдается увеличение содер-



жания фосфолипидов (структурных липидов), а также происходит снижение триацилглицеринов. При повышении температуры до +8°C наблюдается рост концентрации триацилглицеринов. Изменения в составе липидов сказываются и на составе жирных кислот из которых они состоят, например, при пониженных температурах изменяется содержание арахидоновой кислоты (20:4n-6), а при повышении температуры до +8°C наблюдается рост содержания стеариновой (16:0) и паулиновой (20:1n-7) кислот в составе фосфолипидов [5].

Интересным и удобным для изучения биологическим объектом является род двустворчатых моллюсков *Polittapis aurea*, который мало исследован, обитает в Чёрном море, встречается на песчаных грунтах и достигает в длину до 50 мм (высота до 35 мм), а на Крымском побережье распространен на северо-западном и западном побережье [6]. Исследование биологической ценности этого вида моллюсков в Черноморском регионе очень мало [7], именно поэтому жирнокислотный состав этого моллюска вызывает научный интерес.

Важным звеном исследования жирнокислотного состава любого биологического объекта, предшествующим этапу дериватизации и дальнейшего анализа, является метод проведения экстракции целевой фракции из общей массы химических соединений, из которых состоит объект. Понятно, что жиры включают в себя соединения как неполярной, так и амфипатической природы, поэтому для их комплексного извлечения используются различные методики, отличающиеся друг от друга составами экстракционных смесей. Чаще всего для этих целей используют смесь хлороформ-метанол. Соответственно, на экстракции липидов этой смесью, взятой в разных соотношениях, и основываются два наиболее часто применяющихся метода извлечения жиров, а именно метод Фолча [8] и метод

Блая-Дайера [9]. Эти методы были разработаны более пятидесяти лет назад, но до сих пор сохраняют свою эффективность, в особенности в отношении сложных биологических матриц, полученных из различных объектов животного происхождения, в частности гидробионтов [10]. В последствии предпринимались многочисленные попытки, как усовершенствования данных методов путём увеличения циклов экстракции, введения дополнительных реагентов для подкисления проб [11] и отмыки экстрагированной части специальными растворами солей, в частности хлорида натрия или сульфата натрия [12], так и апробирования оригинальных методик, в которых либо полярная, либо неполярная фракция заменялись другими реагентами, такими как гексан, бутанол, этилацетат и метилтрет-бутиловый эфир [13]. Однако для всех этих методов был характерен одинаковый подход извлечения жиров, заключающийся в первоначальном разрушении связи жиров с белками полярными реагентами и последующей экстракции неполярными растворителями. Существуют также и другие способы разделения компонентов сложной биологической матрицы, основанные на микроволновой обработке образца [14], макерации [15] и других методах разделения компонентов пробы, однако способы выделения липидов, представленные в методах Фолча и Блая-Дайера всё равно не теряют своей актуальности с учётом их актуализации под конкретные биологические объекты и способы дериватизации экстрагированного материала.

Соответственно, целью проведения исследования было сравнение жирнокислотного состава полученной липидной фракции, выделенной из двустворчатого моллюска *Polittapis aurea*, с помощью метода Фолча и метода Блая-Дайера и изучения специфичности данных методов по отношению к классам извлекаемых веществ.



Экспериментальная часть

Объектами исследований являлись двустворчатые моллюски *Politapes aureus* (Gmelin, 1791), [16] обитающие на песчано-иловом грунте бухты Казачья (г. Севастополь) в Чёрном море [17]. Пробы взяты 18 марта 2024 г., в количестве 15 экземпляров взрослых особей. После вскрытия моллюсков, исследовали сумму мягких тканей одну часть (5.5 г) методом Фолча, другую (6.1 г) методом Бляя-Дайера. На каждый метод брали по 5 повторностей, на каждую пробу приходилось по 0.7-0.9 г сырого веса ткани.

Экстракцию методом Фолча проводили следующим образом: каждую пробу гомогенизировали, а затем гомогенат экстрагировали хлороформ-метанольной смесью, взятой в соотношении 2:1 из расчёта на 1 г сырой массы 20 см³ смеси. Температура экстракции составляла 20°C. Процесс вели в течение суток, периодически встряхивая реакционную массу. Затем производили фильтрацию, путём добавления около 0.2 частей воды от её общего объема и до полного расслоения, и охлаждали. После чего отбирали нижнюю фазу, которая содержала экстрагированные липиды [7, 18].

Экстракцию методом Бляя-Дайера проводили в отношении другой части отобранной пробы, которую также гомогенизировали, а затем гомогенат отбирали таким образом, чтобы на 1 г массы добавить 1 см³ хлороформа и 2 см³ метанола при тщательном перемешивании. Затем добавляли еще 1 см³ хлороформа и после перемешивания через 30 сек (при мерно) добавляли 1 см³ воды и снова перемешивали смесь около 30 сек. После этого смесь фильтровали, а фильтрат центрифугировали, чтобы отделить хлороформную часть от водно-спиртовой. Для анализа брался хлороформный экстракт. При экстракции общих липидов из суммы мягких тканей двустворчатого моллюска *P. aurea* методом Фолча выделено – 5.0±0.2 г/100 г сырого веса ткани,

а при экстракции методом Бляя-Дайера – 6.1±0.3 г/100 г сырого веса ткани.

После извлечения общих липидов методами Фолча и Бляя-Дайера сухие экстракты липидов растворяли в хлороформе для дальнейшего разделения с помощью тонкослойной хроматографии (далее – ТСХ) на классы липидов: фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды и стерины, свободные жирные кислоты и триацилглицерины методом двумерной тонкослойной хроматографии, описанным ранее [19]. Для анализа использовали пластинки Sorbfil Plates ПТСХ-АФ-А (Краснодар, Россия), обработанные 10% спиртовым раствором фосфорно-молибденовой кислоты, сушили под струей воздуха и хранили в эксикаторе до использования до 3 суток. После нанесения пробы (1-5 мг липидов), рядом наносили стандарты фосфолипидов и триацилглицеринов. В качестве стандарта на ТСХ для триацилглицеринов использовали стандартные образцы ГСО 9437-2009 (жиры); а для фосфолипидов – лецитин (BioChemica). После хроматографического разделения пластины сушили и проявляли в термостате при t=100°C в течение 1-2 мин. Количественный анализ разделенных фракций липидов проводили денситометрически с использованием сканера HP Scanjet 200 с последующей обработкой файлов с расширением «jpg» программой «ТСХ менеджер 4.0.2.3D» [20]. Количественное определение липидных фракций представлено в единицах измерения % от общих липидов. Статистическую обработку полученных результатов (описательная статистика, оценка коэффициентов корреляции, дисперсионный анализ) выполняли с применением программы Grapher 7. Примеры ТСХ экстрактов общих липидов суммы мягких тканей моллюсков *P. aurea*, полученных методами Фолча и Бляя-Дайера, представлены на рисунке 1.

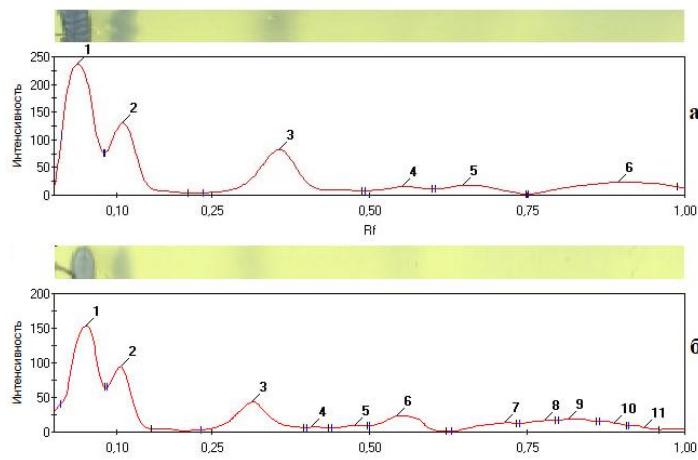


Рис. 1. Комплексный рисунок, полученный из отчета денситометрической программы «TCX менеджер 4.0.2.3D» после обработки TCX экстрактов суммарных тканей моллюска *P. aurea* методами: а – Фолча, б – Блай-Дайера.

Fig. 1. A complex figure obtained from the report of the densitometric program "TLC manager 4.0.2.3D" after TLC treatment of extracts of total tissues of the *P. aurea* mole using the methods: a – Folch, b – Blai-Dyer.

Часть полученных экстрактов общих липидов исследовалась хромато-масс-спектрометрически на содержание ЖК в НИЛ «Молекулярная и клеточная биофизика» ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет» с использованием хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000» с масс-спектрометрическим детектором. Экстракты общих липидов были сконцентрированы на хроматографической бумаге, как описывалось выше, и доставлены в указанную лабораторию, где проводили гексаном (ХЧ, АО «ЭКОС-1»), взятом в объёме 5 см³, смыв закреплённой липидной фракции. Полученную смесь упаривали при температуре 35°C, что во избежание процессов окисления в пробе, а образовавшийся остаток метилировали. Данный способ транспортировки достаточно важен в целях сохранения нативной липидной фракции и повышения точности и достоверности проводимого качественного анализа. Метилирование выделенной фракции общих липидов проводилось следующим образом: липидный экстракт растворялся в 180 мкл диметилсульфоксида (ХЧ, АО «ЭКОС-1») и 20 мкл 25% метанольного раствора тетраметиламмония гидроксида

(ХЧ, Sigma-Aldrich). Растворение проводилось при перемешивании в течение 2 минут, с последующей обработкой 30 мкл йодметана (ХЧ, Sigma-Aldrich). Далее полученную смесь выдерживали в течение 20 минут при комнатной температуре, а затем добавляли гексан (ХЧ, АО «ЭКОС-1»). Затем пробу интенсивно перемешивали с помощью лабораторного шейкера ПЭ-6300 на протяжении 5 минут и центрифугировали на центрифуге-вортексе «Микроспин» FV-2400. Полученный гексановый экстракт, содержащий метилированные формы жирных кислот, переносили в виалу для проведения анализа. Объём пробы, вводимой в хроматограф, составлял 1 мкл. Для разделения компонентов пробы использовали капиллярную колонку HP-5MS UI (Agilent) с неподвижной фазой, представляющую собой 5%-фенил-95%-метилполисиликсан. Длина колонки составляла – 30 м, а внутренний диаметр – 0.25 мм. Толщина неподвижной фазы – 0.25 мкм. В качестве газа-носителя использовали гелий марки 6.0, расход которого составлял 1 см³/мин. Температурный режим колонки – градиентный с начальной температурой 80°C, изотермой 2.0 мин и нагревом 5°C/мин до



Таблица 1. Данные обработки ТСХ суммарных тканей *P. aureus*.

Table 1. TLC treatment data for total tissues *P. aureus*.

Метод	№ пика	Rf	Высота	Площадь	Площадь, %	Rs
Фолча	1	0.04	219	5663	39.33	1.236
	2	0.11	119	2842	19.74	1.493
	3	0.36	80	3157	21.93	1.019
	4	0.55	14	559	3.88	0.944
	5	0.65	16	800	5.56	1.587
	6	0.89	17	1377	9.56	
Блай-Дайера	1	0.05	130	3572	35.28	0.952
	2	0.11	82	1810	17.87	1.793
	3	0.31	41	1639	16.19	0.952
	4	0.41	06	118	1.17	2.438
	5	0.48	08	232	2.29	0.962
	6	0.54	22	890	8.79	2.417
	7	0.71	12	442	4.36	1.614
	8	0.78	15	451	4.46	1.052
	9	0.82	16	567	5.60	1.698
	10	0.89	10	282	2.79	1.002
	11	0.94	04	123	1.21	

280°C. На испарителе деление потока соответствовало 20:1, температура 280°C. Анализ проводили с использованием масс-спектрометрического детектора (далее – ГХ-МС) с электронной ионизацией (70 эВ) и температурой ионного источника 230°C. Температура переходной линии составляла 280°C. Полученный спектр регистрировали в диапазоне масс от 30 до 650 m/z [19]. Обработку полученной хромато-масс-спектрометрической информации проводили с помощью программного обеспечения Хроматэк Аналитик 3.1 (сборка 3.1.2211.3) и библиотеки масс-спектров – NIST 2020 с базой данных от 2 июня 2020 года (NIST MS Search v.2.66.121.82).

Каждая из липидных формул, представленная в результатах была получена путем соотнесения ее метилового эфира, образующегося при этерификации карбоксильной группы, с помощью программного обеспечения. Метилирование проводилось в целях снижения температуры кипения органических кислот при переводе их в более легколетучие соединения, которыми являлись метиловые эфиры этих кислот. Единицы измерения,

в которых приводится содержание компонентов, являются относительными величинами и характеризуются как отношение площади пика индивидуального соединения к сумме площадей всех размещенных на хроматограмме пиков. Для двойной верификации полученных данных параллельно использовали стандарт – стеариновую кислоту (ч., Химреактивснаб), прошедшую аналогичную обработкам пробоподготовку. Время выхода стеариновой кислоты составило 11.235 мин, что соотносится со временем выхода этого же вещества в изучаемых образцах.

Обсуждение результатов

На рисунке 1 показан пример данных, полученных по итогу проведения ТСХ, с программной расшифровкой пиков, представленных для этого же примера в таблице 1. Полученные пики идентифицировались частично по стандартным образцам, при этом в качестве стандарта для триацилглицеринов использовали стандартные образцы ГСО 9437-2009 (жиры), для фосфолипидов – лецитин (BioChemica), а частично по литературным данным, описанным в аналогичной методике разделения на ТСХ общих липидов мидий

Таблица 2. Содержание классов липидов в ОЛ суммарных тканей *P. aureus*, полученный методом ТСХ.

Table 2. The content of lipid classes in the total tissues of *P. aureus* obtained by TLC.

Метод экстракции	Классы липидов, в % от суммы общих липидов (усреднённые данные по всей выборке)					
	Фосфолипиды (пик 1 на рис. 1)	Моноглицериды (пик отсутствует на рис. 1)	диглицериды + стерины (пик 2 на рис. 1)	свободные жирные кислоты (пик отсутствует на рис. 1)	Триацилглицериды (пик 3 на рис. 1)	Другие (остальные пикки)
Фолча	32.5±4.5	0.3±0.3	20.4±1.9	0.6±0.6	24.3±7.5	21.8±4.6
Блай-Дайера	29.6±3.7	0.3±0.3	21.9±2.9	2.6±2.0	17.2±4.2	28.5±2.3

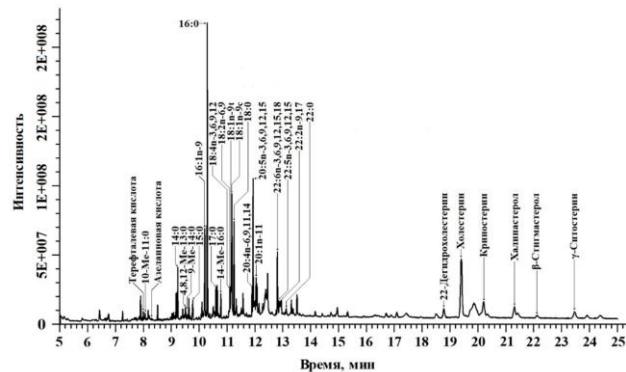


Рис. 2. Хроматограмма общих липидов суммарных тканей моллюска *P. Aurea*, выделенных по методу Фолча.

Fig. 2. Chromatogram of total lipids of the total tissues of the *P. Aurea* mollusk isolated by the Folch method.

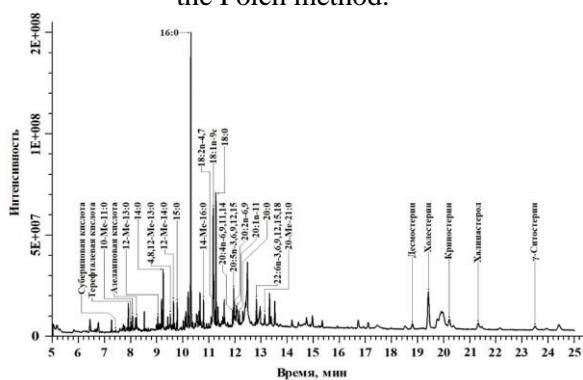


Рис. 3. Хроматограмма общих липидов суммарных тканей моллюска *P. Aurea*, выделенных по методу Блай-Дайера.

Fig. 3. Chromatogram of total lipids of the total tissues of the *P. Aurea* mollusk isolated by the Bligh-Dyer method.

[20]. Остальные неидентифицированные пики отнесены в группу «другие». Представленные в таблице 2 усреднённые по всей выборке данные показывают, что метод Фолча даёт несколько большее из-

влечение для фосфолипидов и триацилглицеринов, а методом Блайя-Дайера, в тоже время, в большем количестве извлекается сумма свободных жирных кислот и других веществ.

Таблица 3. Биохимический состав суммарных тканей *P. aureus*, полученный методом ГХ-МС.
Table 3. Biochemical composition of total *P. aureus* tissues obtained by GC-MS method.

Вещество	Метод Блай-Дайера		Метод Фолча	
	Время вы- хода, мин	Доля, %	Время вы- хода, мин	Доля, %
10-Me-C11:0	8.071	0.894±0.169	8.057	0.302±0.183
12-Me-C13:0	9.039	1.176±0.188	-	-
C14:0	9.243	4.442±0.237	9.225	2.782±0.239
4,8,12-Me-C13:0	9.519	0.914±0.175	9.505	0.550±0.149
9-Me-C14:0	-	-	9.573	0.157±0.093
12-Me-C14:0	9.641	2.333±0.162	-	-
C15:0	9.780	2.207±0.125	9.766	0.935±0.173
C16:0	10.300	25.393±0.217	10.282	19.036±0.210
C17:0	-	-	10.594	1.451±0.156
14-Me-C16:0	10.787	2.398±0.239	10.770	1.702±0.191
C18:0	11.260	10.388±0.207	11.243	5.947±0.153
C20:0	12.153	1.062±0.125	-	-
C22:0	-	-	13.110	0.436±0.143
C20-Me-21:0	13.127	1.042±0.169	-	-
ΣНЖК		52.249±0.183		33.298±0.169
C16:1n-9	-	-	10.193	5.250±0.185
14-Me-C15:1n-6	-	-	10.239	0.187±0.143
C18:1n-9t	-	-	11.142	4.027±0.101
C18:1n-9c	11.160	14.959±0.126	11.167	8.043±0.110
C20:1n-11	12.049	3.577±0.137	12.031	2.812±0.173
ΣМНЖК		18.536±0.132		20.319±0.142
C18:4n-3,6,9,12	-	-	11.096	1.378±0.121
C18:2n-6,9	-	-	11.124	1.379±0.069
C18:2n-4,7	11.142	2.422±0.094	-	-
C20:4n-6,9,12,15	11.906	1.116±0.163	11.888	1.954±0.128
C20:5n-3,6,9,12,15	11.941	3.021±0.153	11.923	9.126±0.153
C20:2n-6,9	11.992	0.147±0.071	-	-
C22:6n-3,6,9,12,15,18	12.812	3.078±0.201	12.794	5.216±0.227
C22:5n-3,6,9,12,15	-	-	12.859	0.802±0.083
C22:2n-9,17	-	-	12.909	0.930±0.087
ΣПНЖК		9.784±0.1364		20.785±0.124
Субериновая кислота	7.587	0.217±0.206		
Терефталевая кислота	8.010	0.926±0.197	7.992	0.516±0.227
Азелainовая кислота	8.222	0.779±0.168	8.204	0.134±0.141
Σ Дикарбоновых кислот		1.922±0.190		0.650±0.184
22-Дегидрохолестерин	-	-	18.750	1.488±0.188
Десмостерин	18.789	1.095±0.224	-	-
Холестерин	19.395	11.787±0.348	19.374	15.302±0.413
Криностерин	20.205	1.864±0.189	20.187	3.030±0.345
Халинастерол	21.305	1.831±0.224	21.284	2.396±0.318
β-Стигмастерол	-	-	22.108	0.792±0.259
γ-Ситостерин	23.469	0.931±0.227	23.437	1.938±0.293
Σ Стеринов		17.508±0.242		24.946±0.303

Результаты исследования фракции об-
щих липидов методом ГХ-МС на содер-
жание метиловых эфиров жирных кис-
лот, полученных после дериватизации

исходной фракции, представлены на ри-
сунках 2 и 3, а также в таблице 3.

При анализе жирнокислотного состава
биологической матрицы обнаружено



всего – 35 соединений липидной природы (таблица 3). При этом методом Фолча было обнаружено и идентифицировано – 22 ЖК и 6 стеринов, а экстракция липидов методом Блая-Дайера, позволила выделить из тканей моллюска – 18 ЖК и 5 стеринов. Методом одного стандарта была определена концентрация стеариновой кислоты, которая присутствовала в обеих пробах. В экстракте, полученном методом Фолча её количество составило 1.993, а методом Блая-Дайера – 1.372 мкг.

На хроматограммах фиксировались различные идентифицируемые примеси. К таким соединениям можно отнести углеводородные соединения алифатического ряда. Данные вещества могут попадать в исследуемый образец либо из-за их наличия в исходном биологическом объекте, либо в ходе пробоподготовки в процессе использования различных органических растворителей. В первом случае, можно предположить, что их источниками могут быть бытовые стоки или загрязнители из водного транспорта. Моллюски-фильтраторы, как известно, накапливают различные вредные вещества из окружающей среды. Во втором случае, растворители, которые использовались, как на этапе экстракции, так и на этапе метилирования могли содержать примесные количества данных углеводородов, что не противоречит регламентирующей документации на выпускаемую продукцию, но может давать некоторый углеводородный фон при проведении масс-спектрометрических исследований сложной матрицы. В число таких загрязнителей и могут попадать различные углеводороды, которые обнаруживаются в ходе проведения анализа. Также нередко в небольших количествах встречаются следы фазы колонки, представленной 5%-фенил-95%-метилполисиликсаном. К таким соединениям относятся различные вещества, присутствующие на хроматограмме и содержащие кремний. Кроме того, некоторые пики сложно идентифицировать,

что может быть обусловлено недостаточным разделением именно компонентов в этой области m/z в это время выхода. Данные примеси не являлись целевыми для исследования веществами и по этой причине не размечались на хроматограмме и, соответственно, не представлены в таблице.

Более детальное рассмотрение данных таблицы 3, может показать существенную разницу между способами экстракции липидной фракции двумя описанными методами, представленными ранее. Большой процент насыщенных жирных кислот (далее – НЖК) показывает метод Блая-Дайера, что может быть обусловлено условиями экстракции поскольку ненасыщенные жирные кислоты имеют растворимость более высокую, чем насыщенные, и она растет с увеличением в кислотах числа изолированных двойных связей, но в определенных растворителях. Всего исследования выявили 14 НЖК в составе моллюска, 11 из которых было экстрагировано по методу Блая-Дайера, а 10 методом Фолча. В принципе, основные НЖК остаются постоянными в независимости от выбора метода. Основными кислотами в данном случае являются безусловно миристиновая (14:0), пальмитиновая (16:0), стеариновая (18:0) и отчасти 14-метилгексадекановая (14-Me-16:0) кислоты. Остальные насыщенные жирные кислоты содержаться в достаточно небольших количествах. К таким кислотам относятся 10-метилундекановая (10-Me-11:0), 4,8,12- trimetiltridekanовая (4,8,12-Me-13:0) и пентадекановая кислоты (15:0). В следовых количествах также встречаются индивидуальные для каждого метода ненасыщенные жирные кислоты, такие как 12-метилтридекановая (12-Me-13:0), 12-метилтетрадекановая (12-Me-14:0), эйкозановая (20:0) и изобегеновая (20-Me-21:0), характерные для экстракции методом Блая-Дайера и 9-метилтетрадекановая (9-Me-14:0), маргариновая (17:0) и бегеновая (22:0) кислоты, которые отчетливо видны



в экстракте, полученном методом Фолча. Создаётся впечатление, что в целом метод Блайя-Дайера лучше извлекает НЖК, в том числе и изокарбоновые или моно- и полиметилразделённые жирные кислоты, в то время как метод Фолча даёт общую экстракцию такого рода кислот, в особенности отличающихся по длине углеводородного радикала. Возможно, что и программное обеспечение просто позволяет точнее в общей массе, полученной после экстракции, идентифицировать по набору полученных ионов именно эти кислоты, а остальные, даже если и имеются на спектре, то не идентифицируются достаточно полно ввиду их недостаточного разделения, или наложения их сигнала, на сигнал от других, более часто встречающихся ионов. Следует отметить, что данные ЖК участвуют в метаболизме животных и человека, но особый интерес из них представляют так называемые ЖК с разветвленной цепью: 12-Ме-13:0 12-Ме-14:0 14-Ме-16:0 20-Ме-21:0. Согласно последним исследованиям, данные соединения играют активную роль в иммуномодулирующей функции тканей, поэтому они достаточны интересны с точки зрения их пищевой и биологической ценности [22].

Что касается ненасыщенных жирных кислот, то всего было определено пять мононенасыщенных жирных кислот (далее – МНЖК) и девять полиненасыщенных жирных кислот (далее – ПНЖК). Из этих кислот было идентифицировано четыре омега-3 (6,9,12,15-октадекатетраеновая, тимнодоновая, 4,7,10,13,16,19-докозагексаеновая и докозапентаеновая кислоты), четыре омега-6 (14-метилпентадек-9-еновая, линолевая, арахидоновая и 11,14-эйкозадиеновая кислоты), и четыре омега-9 кислоты (элаидиновая, олеиновая, гипогеиновая и 5,13-докозадиеновая кислоты). Необходимо отметить, что содержание ценных для здоровья человека омега жирных кислот в данном гидробионте достаточно впечатляющее, так общее относительное содержание

всех омега-3 жирных кислот составляет 16.5% по методу Фолча и 6.1% по метод Блайя-Дайера. Суммарное содержание омега-6 жирных кислот составляет 3.5% по методу Фолча и 1.3% по метод Блайя-Дайера. Омега-9 жирные кислоты идентифицируются в количестве 12% методом Фолча и 15% методом Блайя-Дайера. Таким образом, наблюдается интересная закономерность, которая показывает, что методом Фолча происходит лучшее извлечение фракции ненасыщенных жирных кислот из суммарных тканей данного гидробионта и их последующее разделение и идентификация. В тоже время стоит отметить, что данный моллюск содержит достаточно большое количество ценных для здоровья человека жирных кислот. Некоторые из них, как например омега-3 жирные кислоты не синтезируются нашим организмом [23,24]. Огромное влияние на здоровье животных и человека оказывает докозагексаеновая кислота, которая присутствуют в данном гидробионте. Она оказывает благотворное влияние на регулирование уровня триацилглицеринов, общего холестерина, резистентности к инсулину, кровяного давления, печеночных ферментов, маркеров воспаления и окислительного стресса. Кроме того, имеются доказательства её потенциальной пользы с точки зрения функции митохондрий, регуляции уровня липопротеидов плазмы и снижения риска внезапных сердечно-сосудистых осложнений, связанных с разрывом атеросклеротической бляшки [25]. Омега-6 жирные кислоты, обнаруженные в данном гидробионте, необходимы человеку для поддержания на нормальном уровне деятельности сердечно-сосудистой системы [26,27]. Те же омега-9-цис жирные кислоты встречаются в пищевых продуктах в достаточно низком количестве, но при этом обладают противовоспалительными свойствами, благоприятно влияют на работу зрительного аппарата, печени и ряда других систем человека [28]. Стоит отметить, что методом Фолча,



в отличие от метода Блая-Дайера, экстрагируется и определяется хромато-масс-спектрометрически в небольшом количестве жирная кислота С22:2n-9,17, которая относится к классу неметиленразделённых жирных кислот (далее – НМРЖК), имеющих в своём строении изолированные двойные связи. ЖК такого типа являются ценными компонентами биологических объектов, ввиду меньшей скорости их автоокисления по сравнению с обычными ПНЖК, что позволяет клеткам, построенным с их участием, дольше сохранять функциональность клеточных мембран [2]. Многие из идентифицированных в данном биологическом объекте ПНЖК усваиваются в нашем желудочно-кишечном тракте с помощью специфических белков [29], находящихся в эпителии стенок кишечника и в дальнейшем участвуют в биосинтезе различных тканей человека, локализуясь в основном в клеточных мембранах [30]. Таким образом, исходя из полученного содержания ПНЖК (18:4n-3,6,9,12; 18:2n-6,9; 20:4n-6,9,11,14, 20:5n-3,6,9,12,15; 22:6n-3,6,9,12,15,18) в данном моллюске, можно говорить о его высокой пищевой ценности, с точки зрения содержания соединений данной группы, для млекопитающих животных и человека.

В исследуемом образце также было обнаружено несколько двухосновных органических кислот, а именно субериновая, терефталевая и азелаиновая кислоты. Суммарное их количество невелико относительно остальных идентифицируемых соединений и составляет порядка 1.9% при экстракции по методу Блая-Дайера и 0.7% по методу Фолча. Авторы считают, что данные химические соединения являются контамиантами загрязнителями и попадают в гидробионты, которые обитают в сублиторальной прибрежной зоне, находящейся рядом с большим городским массивом. Соответственно, эти соединения имеют антропогенную природу и оказываются в составе суммарных тканей моллюска ввиду экологической

нагрузки, которая характерна для прибрежной зоны, где активно осуществляется человеческая деятельность. Например, источниками субериновой и азелаиновой кислоты могут быть как антропогенные источники, в том числе сжигание ископаемого топлива, так и продукты жизнедеятельности фитопланктона [31]. Затем образующийся аэрозоль [32] при лёгком ветре уносится в сторону побережья и там осаждается в прибрежном морском районе, где поглощается гидробионтами этой зоны. Другим источником этих же двухосновных органических кислот могут быть частицы микропластика [33] и пищевых упаковочных отходов, которые попадают в мировой океан и моря, а оттуда и в жителей данного ореола обитания, где они аккумулируются в результате их взаимодействия с окружающей водной средой, например, процессов питания и дыхания. Терефталевая кислота, как принято считать [34] является продуктом деградации микропластика, а именно полиэтилентерефталата. Этот материал, будучи самым распространённым материалом из всех пластмасс, широко применяется в пищевой и фармацевтической промышленности и активно связан с жизненным циклом человека. Следовательно, количество отходов данного микропластика будет увеличиваться по мере увеличения численности популяции человека в данном конкретно взятом регионе. Крымское побережье Чёрного моря является достаточно популярным местом среди туристов и проведения разного рода строительных работ, поэтому и антропогенное воздействие в этом регионе достаточно большое. Это находит отражение и в биохимическом составе многих гидробионтов сублиторальной зоны побережья.

Важным компонентом, не относящимся к группе карбоновых кислот, являются стерины, которые в достаточно значимом количестве были обнаружены нами и в составе тканей данного гидро-



бионта. В общей сумме нами было обнаружено и идентифицировано 8 соединений, относящихся к данному классу соединений. Их содержание в пробах общих липидов по методу Блайя-Дайера составляет 17.5%, а по методу Фолча 24.9%. Следует отметить, что лучшее извлечение соединений с ненасыщенными связями осуществляется последним методом. В случае со стеринами эта закономерность тоже работает, и процент извлечённых соединений данной группы в пробе по отношению к другим компонентам больше по Фолчу. Данные соединения не носят примесный характер, а являются одними из основных соединений [35], фигурирующих в биохимическом цикле исследуемого моллюска. Конечно же основным представителем данных соединений, который содержится в пробе в большем количестве, является холестерин, о котором упоминается в начале работы, как о структурном компоненте клеточных мембран всех животных. Некоторые из присутствующих в данном моллюске ПНЖК, при совместном с холестерином потреблении, могут снижать негативное влияние образующихся в организме липопротеинов низкой плотности, и повышать полезный холестерин [36]. Присутствие 22-дегидрохолестерина обусловлено, по-видимому, некоторой спецификой питания фитопланктоном и обнаруживается только методом Фолча. Десмостерин (24-дегидрохолестерин), экстрагирующийся методом Блайя-Дайера, имеет в своём составе дополнительную двойную связь в молекулярной структуре по сравнению с холестерином [37]. Он является биосинтетическим промежуточным предшественником последнего, участвующим в образовании липидов клеточных мембран [38]. Десмостерин является непосредственным предшественником холестерина в пути биосинтеза холестерина по Блоху [39]. Криностерин наряду с брассикастеролом являются продуктами биохимического цикла

стеринов в организме животных и микроорганизмов [40]. Они необходимы в том числе и для синтеза некоторых ферментов, необходимых для функционирования организма. Брассикастерол является плоскостным изомером криностерина. Он может экстрагироваться и совпадать с ним на хроматограмме. Эти изомеры имеют сходство с митохондриальными фитостеролами в жабрах мидий, а значит может попадать в данного гидробионта в том числе из пищи [41]. Халиностерол является антиоксидантом и ингибитором ацетилхолинэстеразы и однозначно участвует в биохимических процессах в организме рассматриваемого моллюска [42]. Данное вещество, помимо всего прочего, оказывает противодиабетическое действие, как и γ -ситостерин [43], а именно сильное ингибирующее действие на α -амилазу. Это может быть интересным в случае рассмотрения данного гидробионта с точки зрения его пищевой ценности. β -Стигмастерол также участвует в цикле стеринов в организме моллюска, а, кроме того, обладает иммуностимулирующим потенциалом, что также благоприятно оказывается на пищевой ценности данного гидробионта [44].

Отличия в экстракции методами Фолча и Блайя-Дайера показали, что наиболее подходящий метод для разделения соединений с ненасыщенными связями у моллюсков являлся метод Фолча, который в литературе приводится чаще для анализа ЖК различных объектов [45]. Метод Блайя-Дайера, дает лучшую экстракцию НЖК из тканей моллюсков. Качественное извлечение целевых компонентов также показало, что метод Фолча даёт большее извлечение веществ липидной природы с двойными связями в своём составе. Так если НЖК извлекаются практически одинаково, то МНЖК методом Фолча экстрагируется в два раза больше по массе, а ПНЖК в четыре раза больше. Стерины методом Фолча экстрагируются также в 2.7 раза больше. Неко-



торыми авторами отмечается общий синергетический эффект данной смеси при разделении некоторых соединений, в частности активных по отношению к растворителям, обладающими способностью образовывать двойные связи, к которым относится и данная смесь [46]. Этим объясняется выбор данной смеси для экстракции различных жирных кислот и липидов в целом. Разница в экстрагировании двумя методами, которую мы видим в результате, может быть связана с большим количеством хлороформа в составе реактива Фолча. Хлороформ и метанол отличаются диэлектрической проницаемостью [47], которая будет влиять на растворимость, разделение компонентов и время выхода в конечную смесь тех или иных соединений, имеющих разную степень сродства к данным растворителям. Это и наблюдается в нашем случае, при одинаковом количестве атомов углерода в углеродном скелете молекулы, наличие двойной связи или нескольких связей, меняет диэлектрические характеристики молекулы, что хорошо описано в литературе [48, 49].

Заключение

Экстракция двумя методами (Фолча и Блай-Дайера) общей липидной фракции из реальной биологической матрицы, полученный на основе липидного экстракта моллюска *P. aurea*, обитающего в сублиторальной зоне севастопольского побережья, показала, что наиболее подходящим

методом для разделения соединений с ненасыщенными связями у моллюсков являлся метод Фолча, тогда как метод Блай-Дайера, позволяет лучше экстрагировать НЖК из тканей моллюсков. Методом Фолча было выделено 10 НЖК, 5 МНЖК и 7 ПНЖК, среди которых присутствует 1 НМРЖК, против 11 НЖК, 2 МНЖК и 5 ПНЖК полученных экстракцией методом Блай-Дайера. Количественное извлечение целевых компонентов также показало, что метод Фолча даёт лучшую экстракцию веществ липидной природы, в том числе стеринов, а именно 6 против 5 полученных методом Блай-Дайера.

Вероятно, это обусловлено различающимися физико-химическими характеристиками получаемых для экстракции, путём смешения в разных соотношениях хлороформа и метанола, растворителей, а также экспозицией проб. Взятое соотношение хлороформа и метанола, используемое в методе Фолча, в отличие от метода Блай-Дайера, по всей видимости обладает большим сродством к органическим соединениям с кратными связями в составе их углеродного скелета, отличающимися большей полярностью за счёт специфического распределения электронной плотности в их молекулах на двойных связях.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы/References

1. Rozentsvet O.A., Fedoseeva E.V., Terekhova V.A. Lipidnye biomarkery v ehkologicheskoy otsenke pochvennoy bioty: analiz zhirnykh kislot. *Biology Bulletin Reviews*. 2019; 139(2): 161-177. <http://doi.org/10.1134/S0042132419020078>
2. Zhukova N.V. Diss. dokt. biol. nauk. Vladivostok. 2009. 267 p. (In Russ.)
3. Bakhmet I.N., Fokina N.N., Ruokolainen T.R. Changes of Heart Rate and Lipid Composition in *Mytilus Edulis* and *Modiolus Modiolus* Caused by crude oil pollution and low salinity effects. *Journal of Xenobiotics*. 2021; 11(2): 46-60. <http://doi.org/10.3390/jox11020004>
4. Fokina N.N., Ruokolainen T.R., Nemova N.N., Martynova D.M., Sukhotin A.A. Fatty acids distribution in seston, tissues,



and faecal pellets of blue mussels *Mytilus edulis* L. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2020; 495(1): 311-318. <http://doi.org/10.1134/S1607672920060046>

5. Fokina N.N., Ruokolainen T.R., Bakhmet I.N., Nemova N.N. Role of lipids in adaptation of mussels *Mytilus edulis* L. of the White Sea to rapid changes in temperature. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2014; 457: 155-157. <http://doi.org/10.1134/S1607672914040103>

6. Tanrıverdi R., Gökoğlu M., Korun J., Raziye Y.T. A preliminary study on the traits of *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) in the Gulf of Antalya, Mediterranean Coast of Turkey (Levantine Sea). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*. 2019; 6(2): 103-108. <http://doi.org/10.29103/aa.v6i1.1551>

7. Borodina A.V. Zadorozhny P.A. Distinctive variations in carotenoid accumulation in tissues of the clam *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) from the Black Sea. *Russian Journal of Marine Biology*. 2022; 48(5): 393-397. <http://doi.org/10.1134/S1063074022050145>

8. Folch J., Lees M., Sloane Stanley C.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry*. 1957; 226(1): 497-509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)

9. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J. Biochem Physiol*. 1959;37(8):911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>

10. Iverson S.J., Lang S.L.C., Cooper M.H. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. *Lipids*. 2001; 36(11):1283-1287 <https://doi.org/10.1007/s11745-001-0843-0>

11. Vostrikova N.L., Kuznetsova O.A., Kulikovsky A.V. Methodological aspects of lipid extraction from biological matrices. *Theory and practice of meat processing*. 2018; 3 (2): 4-21. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-2-4-21>

12. Aripovsky A.V., Kolesnik P.O., Kulagina T.P., Titov V.N. Podgotovka prob dlya gazohromatograficheskogo opredeleniya zhirnyh kislot: preimushchestva bez-ekstrakcionnogo metoda s pryamoj pereerifikasiyej lipidov vysushennyh biologicheskikh prob. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2018; 63 (3): 141-147 <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-141-147>

13. Reis A., Rudnitskaya A., Blackburn G.J., Fauzi N.M., Pitt A.R., Spickett C.M. A comparison of five lipid extraction solvent systems for lipidomic studies of human LDL. *J. Lipid Res.* 2013; 54: 1812-1824 <https://doi.org/10.1194/jlr.M034330>

14. Ferrara D., Beccaria M., Cordero C.E., Purcaro G. Comprehensive comparison of fatty acid methyl ester profile in different food matrices using microwave-assisted extraction and derivatization methods and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with flame ionization detection. *Advances in Sample Preparation*. 2024; 11: 100124 <https://doi.org/10.1016/j.sampr.2024.100124>

15. Costa R., Beccaria M., Grasso E., Albergamo A., Oteri M., Dugo P., Fasulo S., Mondello L. Sample preparation techniques coupled to advanced chromatographic methods for marine organisms investigation. *Analytica Chimica Acta*. 2015; 875: 41-53 <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.032>

16. Jelektronnyj resurs. Available at: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=246150> (accessed 22 June 2024).

17. Revkov N.K. Macrozoobenthos of the Ukrainian zone of the Black Sea. In: Biological resources of the Black Sea and Sea of Azov. Eremeev V.N., Gaevskaya A.V., Shul'man G.E., Zagorodnaya Yu.A. editors. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika; 2011. pp. 140-162. <http://doi.org/10.13140/RG.2.1.4583.7280>

18. Voronin A.V. The densitometric quantitation of some drugs in whole blood. *Bashkortostan medical journal*. 2018; 13,2(74): 40-43.

19. Borodina A.V., Velyaev Yu.O., Osokin A.R. Comprehensive methodological approach to determining lipids in clams. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023; 53(4): 662–672. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2464>
20. Kopytov Y.P. Novyj variant tonkoslojnoj hromatografii lipidov i uglevodov. *Marine ecology*. 1983; 13: 76-80
21. Renkevich A.Yu., Kulikov A.Yu. Developing and validating a quantitative determination method for 4-aminobutanoic acid in sodium alendronate tablets using micellar thin layer chromatography. *Methods and Objects of Chemical Analysis*. 2013; 8(4): 199-206.
22. Zhao Y., Peng L., Yang L-C., Xu X-D., Li W-J., Luo X-M., Jin X. Wedelolactone regulates lipid metabolism and improves hepatic steatosis partly by AMPK activation and up-regulation of expression of PPAR α /LPL and LDLR. *PLOS ONE*. 2015; 10(7): e0132720. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132720>
23. Lu H., Wang Z., Cao B., Cong F., Wang X., Wei W. Dietary sources of branched-chain fatty acids and their biosynthesis, distribution, and nutritional properties. *Food Chemistry*. 2024; 431: 137158. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137158>
24. Khan I., Hussain M., Jiang B., Zheng L., Pan Y., Hu J., Khan A., Ashraf A., Zou X. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids: Metabolism and health implications. *Progress in Lipid Research*. 2023; 92(15): 101255. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2023.101255>
25. Karageorgou D., Rova U., Christakopoulos P., Katapodis P., Matsakas L., Patel A. Benefits of supplementation with microbial omega-3 fatty acids on human health and the current market scenario for fish-free omega-3 fatty acid. *Trends in Food Science & Technology*. 2023; 136(4): 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.04.018>
26. Banaszak M., Dobrzańska M., Kawka A., Gorna I., Wozniak D., Przysławski J., Drzymała-Czyż S. Role of Omega-3 fatty acids eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) as modulatory and anti-inflammatory agents in non-communicable diet-related diseases e Reports from the last 10 years. *Clinical Nutrition ESPEN*. 2024; 63: 240-258. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2024.06.053>
27. Bishehkolaei M., Pathak Y. Influence of omega n-6/n-3 ratio on cardiovascular disease and nutritional interventions. *Human Nutrition & Metabolism*. 2024; 37: 200275
28. Schulze M.B., Minihane A.M., Saleh R.N.M., Risérus U. Intake and metabolism of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: nutritional implications for cardiometabolic diseases. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020; 8(11): 915-930. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30148-0](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30148-0)
29. Farag M.A., Gad M.Z. Omega-9 fatty acids: potential roles in inflammation and cancer management. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2022; 20(1): 48. <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00329-0>
30. Xu E., Chen C., Fu J., Zhu L., Shu J., Jin M., Wang Y., Zong X. Dietary fatty acids in gut health: Absorption, metabolism and function. *Animal Nutrition*. 2021; 7(4): 1337-1344. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.09.010>
31. Mallick R., Basak S., Duttaroy A.K. Fatty acids and evolving roles of their proteins in neurological, cardiovascular disorders and cancers. *Progress in Lipid Research*. 2021; 83: 101116. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101116>
32. Kawamura K., Bikkina S. A review of dicarboxylic acids and related compounds in atmospheric aerosols: Molecular distributions, sources and transformation. *Atmospheric Research*. 2016; 170: 140-160.
33. Song Y., Li J., Tsona N.T., Liu L., Du L. Enrichment of short-chain organic acids transferred to submicron sea spray aerosols. *Science of the Total Environment*.



- 2022; 851: 158122. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158122>
34. Caracci E., Vega-Herrera A., Dachs J., Berrojalbiz N., Buonanno G., Abad E., Llorca M., Moreno T., Farré M. Micro(nano)plastics in the atmosphere of the Atlantic Ocean. *Journal of Hazardous Materials*. 2023; 450(6): 131036. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131036>
35. Tourovaa T.P., Sokolovaa D.Sh., Nazinaa T.N., Gruzdeva D.S., Laptev A.B. Phylogenetic diversity of microbial communities from the surface of polyethylene terephthalate materials exposed to different water environments. *Microbiology*. 2020; 89(1): 96-106. <https://doi.org/10.1134/S0026261720010154>
36. Fidalgo Rodríguez J.L., Dynarowicz-Latka P., Miñones Conde J. How unsaturated fatty acids and plant stanols affect sterols plasma level and cellular membranes? Review on model studies involving the Langmuir monolayer technique. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2020; 232: 104968. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2020.104968>
37. Tan K., Zhang H., Li S., Ma H., Zheng H. Lipid nutritional quality of marine and freshwater bivalves and their aquaculture potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021; 62(25): 6990-7014. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1909531>
38. Xu M., Zhang Y., Wu B., Zhang Y., Qiao M., Singh G., Olafsdóttir E.S., Pálsson S., Heiðmarsson S., Boer H., Þorsteinsdóttir M., Þorkelsson G., Aðalbjörnsson B.V. A critical review of the edible seaweed *Palmaria palmata* (L.) Weber & Mohr and its bioactive compounds in the «omics» era. *Algal Research*. 2024; 82: 103606. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103606>
39. Vainio S., Jansen M., Koivusalo M., Rog T., Karttunen M., Vattulainen I., Ikonen E. Significance of Sterol Structural Specificity desmosterol cannot replace cholesterol in lipid rafts. *The journal of biological chemistry*. 2006; 281(1): 348-355. <https://doi.org/10.1074/jbc.M509530200>
40. Singh P., Saxena R., Srinivas G., Pande G., Chattopadhyay A. Cholesterol Biosynthesis and Homeostasis in Regulation of the Cell Cycle. *PLOS ONE*. 2013; 8(3): e58833. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058833>
41. Leblond J.D., Sabir K., Whittemore H.L. Sterol Composition of the Peridinin-Containing Dinoflagellate *Gertia stigmatica*, a Member of the Kareniaceae without a Canonical Haptophyte-Derived Plastid. *Protist*. 2023; 174(2): 125939. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2023.125939>
42. Fiorini R., Ventrella V., Trombetti F., Fabbri M., Pagliarani A., Nesci S. Lipid-protein interactions in mitochondrial membranes from bivalve mollusks: molecular strategies in different species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry and Molecular Biology*. 2019; 227:12-20. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2018.08.010>.
43. Islam N., Choi S.H., Moon H.E., Park J.J., Jung H.Ah., Woo M.H., Woo H.C., Choi J.S. The inhibitory activities of the edible green alga *Capsosiphon fulvescens* on rat lens aldose reductase and advanced glycation end products formation. *European Journal of Nutrition*. 2014; 53: 233-242. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0521-y>
44. Balamurugan R., Duraipandian V., Ignacimuthu S. Antidiabetic activity of γ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*. 2011; 667: 410-418. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.05.025>
45. Narloch I., Wejnerowska G. A Comparative analysis on the environmental impact of selected methods for determining the profile of fatty acids in cheese. *Molecules*. 2023; 28: 4981. <https://doi.org/10.3390/molecules28134981>
46. Polok K., Subba N., Gadomski W., Sen P. Search for the origin of synergistic solvation in methanol/chloroform mixture



using optical Kerr effect spectroscopy. *Journal of Molecular Liquids*. 2022; 345: 117013. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117013>

47. Sıdır Y.G., Sıdır I. Solvent effect on the absorption and fluorescence spectra of 7-acetoxy-6-(2,3-dibromopropyl)-4,8-dimethylcoumarin: Determination of ground and excited state dipole moments. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013; 102: 286-296. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.10.018>

48. Lizhi Hu., Toyoda K., Ihara I. Dielectric properties of edible oils and fatty acids as a function of frequency, temperature, moisture and composition. *Journal of Food Engineering*. 2008; 88(2): 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.12.035>.

49. Alviso D., Zarate C., Artana G., Duriez T. Regressions of the dielectric constant and speed of sound of vegetable oils from their composition and temperature using genetic programming. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021; 104: 104175. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104175>

Информация об авторах / Information about the authors

Ю.О. Веляев – к.т.н., доцент кафедры «Пищевые технологии и оборудование», ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Политехнический институт, Севастополь, Россия

А.В. Бородина – к.б.н., старший научный сотрудник отдела физиологии животных и биохимии, ФИЦ Института Биологии Южных Морей им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

К.А. Пименов – ведущий инженер отдела физиологии животных и биохимии, ФИЦ Института Биологии Южных Морей им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

А.Р. Осокин – младший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный потенциал приморской территории», ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Россия

Yu.O. Velyaev – PhD in Technology, associate professor of the department «Food Technologies and Equipment», Sevastopol State University, Polytechnical Institute, Sevastopol, Russia, e-mail: velyaevyo@yandex.ru; ORCID ID: 0000-0003-0372-2458

A.V. Borodina – Ph.D of biological sciences, Senior Researcher, Senior Researcher, Department of Animal Physiology and Biochemistry, A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia, e-mail: borodinaav@mail.ru, ORCID ID: 0000-0001-8468-8372

K.A. Pimenov – lead engineer, Department of Animal Physiology and Biochemistry, A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia, e-mail: kapimenov@yandex.ru, ORCID ID: 0009-0008-4516-6924

A.R. Osokin – junior researcher, Research Laboratory «Bioresource potential of the littoral territory», Sevastopol State University, Sevastopol, Russia, e-mail: ruzvelt1@yandex.ru; ORCID ID: 0009-0003-5962-1899

Статья поступила в редакцию 08.10.2024; одобрена после рецензирования 18.02.2025; принята к публикации 19.02.2025.

The article was submitted 08.10.2024; approved after reviewing 18.02.2025; accepted for publication 19.02.2025.