



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 3. С. 267–274
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 3, pp. 267–274
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-3-267-274>

Научная статья
УДК 543.422.3

Применение катионного красителя пиронина G (Y) для количественного экстракционно-фотометрического определения высших карбоновых кислот в рыбе



В. В. Жилко^{1,2}, Н. В. Нехань^{1,3} ✉

¹Белорусский государственный университет, Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, д. 4

²Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Республика Беларусь, 220070, г. Минск, ул. Долгобродская, д. 23

³Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка, Республика Беларусь, 220050, г. Минск, ул. Советская, д. 18

Жилко Вячеслав Владимирович, кандидат химических наук, доцент, ¹доцент кафедры аналитической химии; ²декан факультета мониторинга окружающей среды, zhylko@tut.by, <https://orcid.org/0000-0001-5561-4454>

Нехань Наталья Викторовна, аспирант кафедры аналитической химии¹; преподаватель кафедры химии³, n.klimashevich@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2611-3498>

Аннотация. Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью разработки методик извлечения и количественного определения высших карбоновых кислот в рыбе. В данной работе предложена простая, недорогая и высокочувствительная экстракционно-фотометрическая методика селективного определения общего содержания высших карбоновых кислот. Данная методика селективна и основана на количественной экстракции в органическую фазу ионных ассоциатов катионного красителя пиронина G (Y) с высокогидрофобными карбоновыми кислотами и представляется перспективной для количественного определения последних в рыбе. Значительное внимание в работе уделено пробоподготовке, которая является наиболее важной стадией анализа, так как работа ведется с природным образцом, имеющим сложный состав. Методика была опробована на реальных объектах, с использованием данной методики была получена прямо пропорциональная зависимость концентрации высших карбоновых кислот в рыбе от времени хранения. Установлено, что для извлечения высших карбоновых кислот наиболее эффективной является гептан/изо-пропаноловая система. Предел обнаружения высших карбоновых кислот экстракционно-фотометрическим методом с применением катионного красителя пиронина G(Y) в рыбе составляет $4,4 \cdot 10^{-7}$ М. Полученные результаты позволяют утверждать, что разработанная методика может использоваться для определения свежести рыбы.

Ключевые слова: экстракция, пиронин G, экстракционно-фотометрическое определение, карбоновые кислоты, катионные красители

Для цитирования: Жилко В. В., Нехань Н. В. Применение катионного красителя пиронина G (Y) для количественного экстракционно-фотометрического определения высших карбоновых кислот в рыбе // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 3. С. 267–274. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-3-267-274>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Application of cationic dye pyronin G (Y) for quantitative extraction-photometric determination of higher carboxylic acids in fish

V. V. Zhylko^{1,2}, N. V. Nekhan^{1,3} ✉

¹Belarusian State University, 4 Nezavisimosti Ave., 220030 Minsk, Republic of Belarus

²International State Environmental Institute of Belarusian State University, 23 Dolgobrodskaya St., 220070 Minsk, Republic of Belarus

³Belarusian State Pedagogical University named after M. Tank, 18 Sovetskaya St., 220050 Minsk, Republic of Belarus

Viachaslau V. Zhylko, zhylko@tut.by, <https://orcid.org/0000-0001-5561-4454>

Natalia V. Nekhan, n.klimashevich@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2611-3498>

Abstract. The relevance of this study is due to the need to develop methods for the extraction and quantitative determination of higher carboxylic acids in fish. In this work, we propose a simple, inexpensive, and highly sensitive extraction-photometric technique for the selective determination of the total content of fatty acids. This technique is selective and is based on the quantitative extraction into the organic phase of ionic associates of the cationic dye pyronin G (Y) with highly hydrophobic carboxylic acids and seems promising for the quantitative determination of the fatty carboxylic acids in fish. Considerable attention is paid to the sample preparation, which is the most important stage of analysis, since the work is carried out with a natural sample that has a complex composition. The technique has been tested on real objects, also using this technique, a directly proportional dependence of the concentration of higher carboxylic acids in fish on the storage time has been obtained. It has been



established that the heptane/iso-propanol system is the most effective for the extraction of higher carboxylic acids. The limit of detection of higher carboxylic acids by the extraction-photometric method using the cationic dye pyronin G(Y) in fish is $4,4 \cdot 10^{-7}$ M. The results obtained allow us to state that the developed method can be used to determine the freshness of fish.

Keywords: extraction, pyronin G, extraction-photometric determination, carboxylic acids, cationic dyes

For citation: Zhylo V. V., Nekhan N. V. Application of cationic dye pyronin G (Y) for quantitative extraction-photometric determination of higher carboxylic acids in fish. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 3, pp. 267–274 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-3-267-274>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Одним из важнейших параметров качества рыбы является ее свежесть. Данный параметр сложно задать количественно. Как правило, свежесть рыбы определяется органолептическими методами [1]. Такие методы обладают рядом недостатков, среди которых главным является их субъективность. Поэтому для оценки качества рыбы наиболее предпочтительными представляются объективные физические или химические методы анализа.

Одним из количественных индикаторов свежести рыбы может служить количественное значение свободных высших карбоновых кислот, которое изменяется со временем в тканях рыбы за счет ферментативного гидролиза жиров [2]. Вышеописанный процесс высвобождения свободных кислот может протекать и при температуре ниже -20°C , которая для большинства заготавливаемых рыб является температурой хранения [3]. Как следует из источников [4–8], для количественного анализа высших карбоновых кислот могут использоваться хроматографические, потенциметрические, спектрофотометрические, титриметрические методы анализа, в общем случае характеризующиеся или низкой чувствительностью (титрование), или сложностью пробоподготовки и детектирования (хроматография).

Среди хроматографических методов анализа газовая хроматография (ГХ) занимает ведущее место [9, 10]. Она позволяет провести качественный и количественный анализ жирных кислот, однако такая процедура дорогая, сложная и неэкспрессная.

К тому же метод требует специальной подготовки образца, поскольку высшие карбоновые кислоты (ВКК) имеют низкую летучесть, образуют водородные связи. С такими проблемами борются путем модифицирования карбоновых кислот, как правило, их этерифицируют метанолом в присутствии гидроксида натрия.

Несмотря на то что при атмосферном давлении температура кипения высших карбоновых кислот близка к температуре разрушения и даже выше ее, предложены некоторые ГХ методы ана-

лиза, использующие немодифицированные ВКК. Сложности вызывает также подбор инертной фазы, газа-носителя и способа введения пробы.

Подробная методика прямого потенциометрического анализа описана в работе [11]. Предложенный метод отличается достаточно простой пробоподготовкой: измерение pH проводят либо сразу же после мацерации образца, либо к измельченному образцу добавляют воду. Однако при использовании такого способа пробоподготовки следует убедиться, что есть контакт между измельченным филе рыбы и мембраной электрода.

К недостаткам методики относится сорбция белков на поверхности электрода, что в итоге искажает показания прибора. Чтобы устранить влияние белков на работу электрода, должна проводиться его очистка, особенно после длительного использования.

Кислотно-основное титрование – классический способ определения общей кислотности, который отличается быстротой, дешевизной и достаточной чувствительностью.

Методика кислотно-основного титрования обладает рядом недостатков, среди которых высокая вероятность ошибки, обусловленная сложностями зрительного детектирования точки эквивалентности. На определение конечной точки титрования влияют мутность раствора, каротиноиды, пигменты и продукты окисления.

ИК-спектроскопия с фурье-преобразованием является альтернативным вариантом методики для количественной идентификации высших карбоновых кислот. Основана она на том, что C=O часть карбоксильной группы имеет характеристическую частоту поглощения (1711 см^{-1}). Однако ее сигнал перекрывается сигналом C=O частью сложноэфирной группы триглицеридов. Но вклад сложноэфирной группы в общий сигнал может быть оценен при помощи калибровки.

Особенностью анализа рыбы, согласно данным методам исследования, является то, что практически все перечисленные методы требуют предварительного извлечения и даже модификации высших карбоновых кислот, что весьма трудоемко, длительно и порой требует использования опасных растворителей [12, 13].



Как и в большинстве методик анализа реальных природных объектов, экстракционно-фотометрическая методика анализа требует предварительного извлечения искомым карбоновыми кислот. Для этого нами выбрана экстракция, как наиболее сочетаемая с фотометрией. На основе литературных данных наиболее перспективными были выбраны и экспериментально опробованы следующие методы извлечения:

- экстракция этанолом [14];
- экстракция по методу Блая–Дайера (хлороформ/метанол) [15];
- экстракция гексан/изо-пропанолом [16, 17].

Во всех случаях методики были модифицированы согласно [18, 19] нашим работам под применение красителя пиронина G (Y) и органической фазы 5% н-октанола в гептане.

Использование в качестве катионного красителя пиронина G имеет ряд преимуществ. Данное соединение практически не подвержено влиянию значения pH. Его спектр практически не изменяется как в водной, так и в органической фазах. Кроме того, водные растворы пиронина очень устойчивы во времени. К достоинствам красителя можно отнести и высокую растворимость в воде, необходимую в некоторых случаях для успешной экстракции ассоциата красителя с гидрофобными кислотами в органическую фазу. Также отметим, что даже значительные (до 0,5 моль/л) концентрации большинства распространенных неорганических анионов не оказывают влияния на экстракцию пиронина G с высшими карбоновыми кислотами [19].

Данная методика обладает рядом достоинств: универсальностью, т.к. возможен анализ как водных растворов высших карбоновых кислот, так и обнаружение гидрофобных кислот в неполярных соединениях; низкими пределами обнаружения и хорошей воспроизводимостью. К преимуществам методики можно отнести то, что на анализ практически не оказывают влияния примеси углекислоты и других неорганических кислот, а также низкомолекулярные карбоновые кислоты [18].

Материалы и методы

Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре Solar PB 2201 при температуре 20 °С. Для поддержания заданной температуры использовался термостат ТW- 2. В целях упрощения расчетов объемы водной и органической фаз в экстракционно-фотометрических системах были равны.

Для проведения исследований были использованы следующие вещества: пиронин G – Fluka

Chemie AG, ч., гептан эталонный, н-октанол-1 ч., хлорид натрия ч., глицин, соляная кислота х.ч., гидроксид натрия ч.д.а., хлороформ ч.д.а., метанол – «ч.», изо-пропанол – «х.ч.», этанол – пищевой высшей очистки.

Результаты и их обсуждение

С целью выбора наиболее эффективной системы извлечения кислот из образцов рыбы, как было указано выше, были исследованы три системы.

Экстракция карбоновых кислот различными методами

1. Экстракция карбоновых кислот этанолом

1 г образца смешивался с 10 см³ этанола, затем полученный этанольный экстракт был разбавлен в 11 раз, после чего разбавленный экстракт был добавлен в систему для фотометрического анализа. Система состояла из 0,5 см³ разбавленного этанольного экстракта, 1 см³ 5% раствора н-октанола в гептане, органическая фаза доводилась до 6 см³ гептаном; в систему так же были внесены 1 см³ 1,00·10⁻³ М раствора пиронина G, 0,3 см³ раствора гидроксида натрия (0,02 М) и объем водной фазы доводился водой до 6 см³. По такому же принципу были приготовлены следующие системы: холостая система, где вместо 0,5 см³ разбавленного экстракта был внесен идентичный объем этанола, и система, содержащая вместо 0,5 см³ разбавленного экстракта 0,5 см³ концентрированного экстракта.

В ходе исследования органической фазы, полученной после проведения экстракции этанолом, были получены следующие результаты, которые представлены в табл. 1.

Низкие значения оптической плотности для данных систем показали, что степень извлечения карбоновых кислот этанолом невелика (уровень нескольких сотых), поэтому такая экстракционная система представляется бесперспективной.

2. Экстракция карбоновых кислот по методу Блая–Дайера

К образцу массой 3,011 г было добавлено 3 см³ хлороформа и 6 см³ метанола. Смесь перемешивалась 15 мин, а затем фильтровалась через бумажный фильтр. После чего было отобрано 0,1 см³ экстракта, и данный объем был внесен в систему, состоящую из 1 см³ 5% н-октанола, 4,9 см³ гептана, 0,5 см³ 1,00·10⁻³ М раствора пиронина G, 0,3 см³ раствора гидроксида натрия (0,02 М) и объем водной фазы доводили водой до 6 см³. Как верхняя, так и нижняя фазы приготовленной системы оказались мутными, поэтому была проведена реэкстракция для удаления примесей.



Для проведения реэкстракции в пробирку были внесены экстракт объемом 3 см^3 , 1 см^3 хлороформа и 1 см^3 0,88% раствора хлорида натрия. Полученные системы перемешивались 10 мин, термостатировались при 20°C 30 мин. Система расслоилась на две фазы, где верхняя фаза объемом $3,8 \text{ см}^3$ была мутной, а нижняя

объемом 2 см^3 была прозрачной. Нижняя хлороформная фаза была разбавлена в 20 раз, после чего 1 см^3 разбавленного реэкстракта был внесен в аналогичную систему для оптического анализа. Результаты спектрофотометрического анализа хлороформной фазы реэкстракта и холостой системы представлены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Результаты экстракционно-фотометрического анализа для различных методик извлечения ($P = 0,95$; $n = 3$)
Results of extraction-photometric analysis for various extraction methods ($P = 0,95$; $n = 3$)

Система / System	Холостая система / Idle system	Система с концентрированным экстрактом / Concentrated extract system
Этанол / Ethanol	$0,025 \pm 0,005$	0,050
Хлороформ/метанол (1:2) / Chloroform/methanol (1:2)	$0,683 \pm 0,021$	0,787
Гексан/изо-пропанол (3:2) / Hexane/iso-propanol (3:2)	$0,065 \pm 0,008$	$0,527 \pm 0,006$

Высокие значения оптической плотности сравнимые по величине для холостого опыта и системы с экстрактом показали, что данную экстракционную систему использовать затруднительно.

3. Экстракция карбоновых кислот гексаном/изо-пропанолом

Данные исследования показали, что смесь гексана/изо-пропанола в соотношении 3:2 обладает высокой эффективностью извлечения карбоновых кислот из рыбы.

Извлечение карбоновых кислот осуществлялось следующим образом. $1,0302 \text{ г}$ рыбы смешали с $10,8 \text{ см}^3$ гексана и $7,2 \text{ см}^3$ изо-пропанола. Смесь перемешивалась 15 мин и фильтровалась через бумажный фильтр. После чего было отобрано $0,1 \text{ см}^3$ экстракта, и данный объем был внесен в систему, состоящую из 1 см^3 5% н-октанола в гептане, $4,9 \text{ см}^3$ гептана, $0,5 \text{ см}^3$ $1,00 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ раствора пиронина G, $0,3 \text{ см}^3$ раствора гидроксида натрия ($0,02 \text{ М}$) и объем водной фазы доводили водой до 6 см^3 .

В работе нами была проведена модификация методики [13, 14], так как обе фазы оказались мутными, поэтому была проведена реэкстракция. В пробирку одновременно вносили экстракт карбоновых кислот из рыбы объемом 4 см^3 и 4 см^3 дистиллированной воды. Полученные системы перемешивались 10 мин, термостатировались при 20°C 30 мин. Система расслоилась на две фазы, где нижняя фаза объемом 6 см^3 была слегка мутной, а верхняя объемом 2 см^3 была прозрачной. Часть верхней гексановой фазы объемом $0,4 \text{ см}^3$ была внесена в аналогичную систему для оптического анализа. Результаты анализа верхней гексановой фазы реэкстракта, полученного

после извлечения карбоновых кислот гексаном/изо-пропанолом (3:2), представлены в табл. 1.

На базе результатов исследований вышеизложенных методик была выбрана наилучшая система: гексан/изо-пропанол (3:2). В дальнейшем именно эта система была опробована на реальных образцах.

Проверка методики

В качестве рыбы был выбран озёрный карп. Для проверки корректности методики и полноты переноса высших карбоновых кислот были использованы метод разбавления и метод добавок. В отдельные пробирки помещали x и $2x$ г рыбы и x + известное количество кислоты соответственно. Экстракты из каждой пробирки анализировались трижды, то есть в пробирки с пришлифованными пробками вносили по $0,500$; $0,250$; $0,250$; $0,250 \text{ г}$ образца, в последние две пробирки вносили по $0,2$ и $0,4 \text{ см}^3$ $2,41 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ раствора пальмитиновой кислоты в гексане. В каждой пробирке гексановую фазу доводили до $5,4 \text{ см}^3$. Также вносили по $3,6 \text{ см}^3$ изо-пропанола, смесь перемешивали 15 мин. Экстракт фильтровали через бумажный фильтр и отбирали по 6 см^3 экстракта для проведения реэкстракции. Вносили по 6 см^3 дистиллированной воды и по $0,1 \text{ см}^3$ $0,1 \text{ М}$ раствора азотной кислоты. Перемешивали систему 10 мин и термостатировали при 20°C 30 мин. Затем верхнюю гексановую фазу разбавляли в 20 раз.

Количественное содержание высших карбоновых кислот в образце определялось относительно стандартного раствора пальмитиновой кислоты в гексане, для чего был приготовлен $2,41 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ раствор пальмитиновой кислоты в гексане. В три пробирки с пришлифованными



пробками вносили по 1 см³ 2,41 · 10⁻⁴ М раствора пальмитиновой кислоты. Туда же вносили 1 см³ 5% раствора н-октанола в гептане, органическую фазу доводили до 6 см³ гептаном. Затем вносили в пробирки по 0,5 см³ 1,00 · 10⁻³ М раствора пиронина G, 0,5 см³ раствора гидроксида натрия (0,02 М) и объем водной фазы доводили водой

до 6 см³. По такому же принципу готовили три холостых опыта, где вместо гексанового раствора пальмитиновой кислоты брали чистый гексан. Результаты представлены в табл. 2. Для всех 24 образцов рыбы результаты весьма близки, что позволяет говорить о корректности выбранных экстракции и количественного анализа.

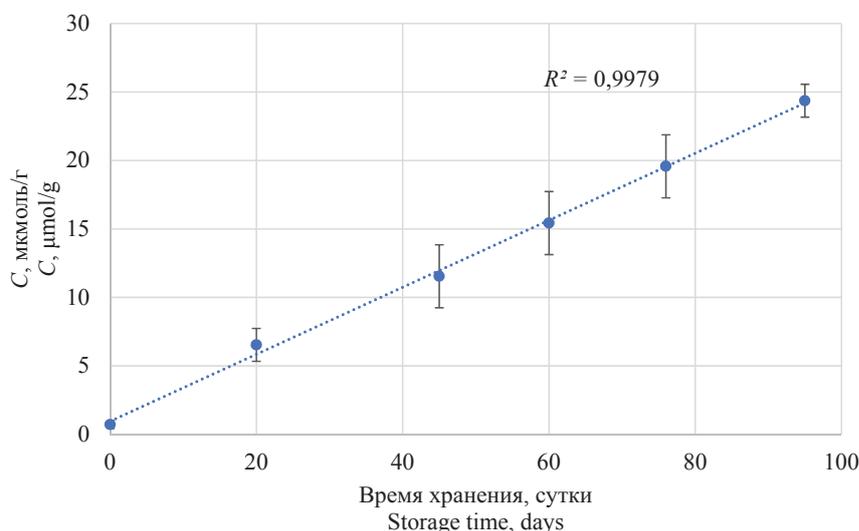
Таблица 2 / Table 2

Результаты определения концентрации карбоновых кислот в карпе (P = 0,95; n = 3)
Results of determining the concentration of carboxylic acids in carp (P = 0,95; n = 3)

Время хранения, сутки / Storage time, days	Концентрация кислот в образце, мкмоль/г / Concentration acids in sample, μmol/g	Исходный образец с добавлением пальмитиновой кислоты, с поправкой на добавленные количества, мкмоль/г / Original sample with adding palmitic acids, with adjustment for added quantity, μmol/g	Исходный образец, разбавленный (в два раза), с поправкой на разбавление, мкмоль/г / Original sample, diluted (two times), corrected for dilution, μmol/g
0	0,68±0,29	0,72±0,28	0,76±0,3
20	6,4±0,6	6,53±0,5	6,64±0,6
45	11±3,0	12±3,0	12±3,0
60	15,2±2,6	15,2±2,6	15,9±2,5
76	20,4±2,9	18,8±2,6	19,6±3,0
90	24,6±1,2	24,7±1,2	23,9±1,3

В ходе проверки корректности методики нами также была выявлена близкая к линейной зависимость содержания высших карбоновых кислот в рыбе от срока хранения (рисунок).

Полученная линейная зависимость содержания высших карбоновых кислот в филе рыбы (карп) от срока хранения хорошо согласуется с литературными данными [3].



Концентрация карбоновых кислот в рыбе в зависимости от срока хранения
 Concentration of carboxylic acids in fish depending on the period of storage

Как известно, использование прямого экстракционно-фотометрического метода определения высших карбоновых кислот затруднительно, несмотря на то что карбоновые кислоты уже при

pH 6 ионизованы более чем на 90%. Причиной этого служит процесс переноса неионизированной формы кислоты в органическую фазу, конкурирующий с экстракцией ионных ассоциатов.



В связи с этим для количественного описания экстракционных процессов с участием ассоциатов катионных красителей и высших карбоновых кислот необходимо определить значение констант распределения высших карбоновых кислот в аналитической экстракционной системе (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

Расчетные значения константы распределения P для карбоновых кислот в гексан/изо-пропанол
Calculated values of the distribution constant P for carboxylic acids in hexane/iso-propanol

Общее число атомов углерода / Total number of carbon atoms	Константа распределения карбоновой кислоты, P_{RCOOH} / Distribution constant of carboxylic acid, P_{RCOOH}
10	0,049
13	1,3
16	39
18	360

Значения оптической плотности водно-спиртовой фазы вышли на уровне холостого опыта, что говорит о высокой эффективности извлечения пальмитиновой кислоты данной экстракционной системой. Поэтому для определения константы распределения был использован метод инкрементов.

Согласно методу инкрементов логарифм константы распределения высших карбоновых кислот рассчитывается по уравнению:

$$\lg P = -(I_{\text{COOH}} + n \cdot I_{\text{CH}_2} + 0.5 \cdot I_{\text{H}}),$$

где n – число углеродных атомов в радикале вещества, I_{CH_2} – инкремент CH_2 -группы, $I_{\text{СНООН}}$ – инкремент карбоксильной группы, I_{H} – инкремент атома водорода углеводородного радикала.

Среди исследованных в ходе эксперимента экстракционных систем наиболее подходящей для извлечения гидрофобных кислот из рыбы является система гексан/изо-пропанол, поскольку она удовлетворяет основным требованиям, предъявляемым к подобным системам. Используемые растворители являются общедоступными, а их комбинация обеспечивает эффективное разделение фаз без проведения дополнительных операций, таких как центрифугирование и фильтрование. К тому же константы распределения высших карбоновых кислот для данной экстракционной системы являются наивысшими среди предложенных экстракционных систем, и выбранная экстракционная система позволяет эффективно переносить

высшие карбоновые кислоты в органическую фазу при проведении однократной экстракции.

Таким образом, в работе предложена и использована для реальных образцов новая экстракционно-фотометрическая методика количественного определения высших карбоновых кислот в рыбе с использованием эффективной экстракционной гептан/изо-пропаноловой системы, предложенной нами. Данная методика была использована для определения накопления со временем высших карбоновых кислот в филе рыбы при хранении в замороженном состоянии. Предел обнаружения высших карбоновых кислот экстракционно-фотометрическим методом с применением катионного красителя пиронина G(Y) в рыбе составляет $4,4 \cdot 10^{-7}$ М. Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными.

Список литературы

1. ГОСТ 7631-2008. Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Взамен ГОСТ 7631-85; 2009 – 01 – 01. Минск : Межгос. Совет по стандартизации, метрологии и сертификации; М. : Изд-во стандартов, 2010. 16 с.
2. Боева Н. П. Технология жиров из водных биологических ресурсов. М. : Изд-во ВНИРО, 2016. 107 с.
3. Alberta N. FTIR determination of free fatty acids in fish oils intended for biodiesel production // Process Biochemistry. 2009. Vol. 44. P. 401–405. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.12.004>
4. Seppanen-Laakso T. Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition // Analytica Chimica Acta. 2002. Vol. 465. P. 39–62. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00397-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00397-5)
5. Abalos M. Application of gas chromatography coupled to chemical ionisation mass spectrometry following headspace solid-phase microextraction for the determination of free volatile fatty acids in aqueous samples // J. of Chromatography A. 2000. Vol. 891. P. 287–294. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00655-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00655-5)
6. Nikolova-Damyanova B. High-performance liquid chromatography of fatty-acid derivatives in the combined silver ion and reversed-phase modes. // J. of Chromatography A. 1993. Vol. 653, № 1. P. 15–23. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80387-N](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80387-N)
7. Brando T. Analysis of aminofluorescein-fatty acid derivatives by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection at the attomole level: application to mycobacterial fatty acids // J. of Chromatography A. 2002. Vol. 973. P. 203–210. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01216-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01216-5)
8. Windarsih A., Lestari L., Erwanto Y., Putri A. R., Fadzilalah N. A., Rahmawati N., Rohman A. Application of



- Raman Spectroscopy and Chemometrics for Quality Controls of Fats and Oils: A Review // *Food Reviews International*. 2021. P. 1–20. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2014860>
9. Aziz N. A. Quantitative Determination of Fatty Acids in Marine Fish and Shellfish from Warm Water of Straits of Malacca for Nutraceutical Purposes // *BioMed Research International*. 2013. P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2013/284329>
 10. Khoddami A. Quality and fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Euthynnus affinis*) // *African Journal of Biotechnology*. 2012. Vol. 11. P. 1683–1689. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1699>
 11. Otero P., Carpena M., Fraga-Corral M., Garcia-Oliveira P., Soria-Lopez A., Barba F. J., Xiao J., Simal-Gandara J., Prieto M. A. Aquaculture and agriculture-by products as sustainable sources of omega-3 fatty acids in the food industry // *eFood*. 2021. Vol. 2, № 5. P. 209–233. <https://doi.org/10.53365/efood.k/144603>
 12. Crexi V. T. Winterization of fish oil with solvent // *Food Science and Technology*. 2009. Vol. 29, № 1. P. 207–213. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000100032>
 13. Homayooni B. Concentrations of omega-3 fatty acids from rainbow sardine fish oil by various methods // *International Food Research Journal*. 2015. Vol 5, № 2. P. 743–748.
 14. Ali S. K., Shahidi F., Sedaghat N. Evaluation of the effect of carboxy methyl cellulose edible coating containing *Astragalus* honey (*Astragalus gossypinus*) on the shelf-life of pistachio kernel // *Food Control*. 2022. 109094. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109094>
 15. Iverson S. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue // *Lipids*. 2001. Vol. 36. P. 1283–1287. <https://doi.org/10.1007/s11745-001-0843-0>
 16. Hara A. Lipid Extraction of Tissues with a Low-Toxicity Solvent // *Analytical Biochemistry*. 1978. Vol. 90. P. 420–426. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90046-5)
 17. Gunnlaugsdottir H. Three extraction methods for determination of lipids in fish meal: Evaluation of a hexane/isopropanol method as an alternative to chloroform-based methods // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1993. Vol. 61. P. 235–240. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610216>
 18. Жилко В. В. Экстракция высших карбоновых кислот с катионным красителем Пиронин Ж в сильнощелочной среде // *Аналитика РБ-2018* : сб. ст. 6-й республик. конф. по аналит. химии. Минск : Колорград, 2018. С. 70.
 19. Жилко В. В. Подбор катионных красителей и условий экстракции для фотометрического определения высших карбоновых кислот // *Актуальные задачи химии: исследования и перспективы* : сб. материалов конф. Житомир : Изд-во ЖГУ им. И. Франко, 2018. С. 23.
- ## References
1. GOST 7631–2008. Fish, non-fish objects and products from them. Instead of GOST 7631–85; 2009 – 01 – 01. Minsk, Mezhhgos. Council for Standardization, Metrology and Certification, Moscow, Publishing House of Standards, 2010. 16 p. (in Russian).
 2. Boeva N. P. *Tekhnologiya zhirov iz vodnykh biologicheskikh resursov* [Technology of fats from aquatic biological resources]. Moscow, Publishing House of VNIRO, 2016. 107 p. (in Russian).
 3. Alberta N. FTIR determination of free fatty acids in fish oils intended for biodiesel production. *Process Biochemistry*, 2009, vol. 44, pp. 401–405. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.12.004>
 4. Seppanen-Laakso T. Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. *Analytica Chimica Acta*, 2002, vol. 465, pp. 39–62. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00397-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00397-5)
 5. Abalos M. Application of gas chromatography coupled to chemical ionisation mass spectrometry following headspace solid-phase microextraction for the determination of free volatile fatty acids in aqueous samples. *J. of Chromatography A*, 2000, vol. 891, pp. 287–294. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00655-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00655-5)
 6. Nikolova-Damyanova B. High-performance liquid chromatography of fatty-acid derivatives in the combined silver ion and reversed-phase modes. *J. of Chromatography A*, 1993, vol. 653, no. 1, pp. 15–23. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80387-N](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80387-N)
 7. Brando T. Analysis of aminofluorescein-fatty acid derivatives by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection at the attomole level: application to mycobacterial fatty acids. *J. of Chromatography A*, 2002, vol. 973, pp. 203–210. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01216-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01216-5)
 8. Windarsih A., Lestari L., Erwanto Y., Putri A. R., Fadzillah N. A., Rahmawati N., Rohman A. Application of Raman Spectroscopy and Chemometrics for Quality Controls of Fats and Oils: A Review. *Food Reviews International*, 2021, pp. 1–20. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2014860>
 9. Aziz N. A. Quantitative Determination of Fatty Acids in Marine Fish and Shellfish from Warm Water of Straits of Malacca for Nutraceutical Purposes. *BioMed Research International*, 2013, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2013/284329>
 10. Khoddami A. Quality and fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Euthynnus affinis*). *African Journal of Biotechnology*, 2012, vol. 11, pp. 1683–1689. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1699>
 11. Otero P., Carpena M., Fraga-Corral M., Garcia-Oliveira P., Soria-Lopez A., Barba F. J., Xiao J., Simal-Gandara J., Prieto M. A. Aquaculture and agriculture-by products as sustainable sources of omega-3 fatty acids in the



- food industry. *eFood*, 2021, vol. 2, no. 5, pp. 209–233. <https://doi.org/10.53365/efood.k/144603>
12. Crexi V. T. Winterization of fish oil with solvent. *Food Science and Technology*, 2009, vol. 29, no. 1, pp. 207–213. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000100032>
13. Homayooni B. Concentrations of omegas-3 fatty acids from rainbow sardine fish oil by various methods. *International Food Research Journal*, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 743–748.
14. Ali S. K., Shahidi F., Sedaghat N. Evaluation of the effect of carboxy methyl cellulose edible coating containing Astragalus honey (*Astragalus gossypinus*) on the shelf-life of pistachio kernel. *Food Control.*, 2022. 109094. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109094>
15. Iverson S. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue. *Lipids*, 2001, vol. 36, pp. 1283–1287. <https://doi.org/10.1007/s11745-001-0843-0>
16. Hara A. Lipid Extraction of Tissues with a Low-Toxicity Solvent. *Analytical Biochemistry*, 1978, vol. 90, pp. 420–426. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90046-5)
17. Gunnlaugsdottir H. Three extraction methods for determination of lipids in fish meal: Evaluation of a hexane/isopropanol method as an alternative to chloroform-based methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1993, vol. 61, pp. 235–240. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610216>
18. Zhylko V. U. Extraction of higher carboxylic acids with a cationic dye Pironin Zh in a strongly alkaline medium. *Analytics RB–2018: coll. art. 6th Republic conf. according to analyt. chemistry*. Minsk, Kolorgrad Publ., 2018. P. 70 (in Russian).
19. Zhylko V. U. Selection of cationic dyes and extraction conditions for the photometric determination of higher carboxylic acids. In: *Actual problems of chemistry: research and prospects: coll. materials conf.* Zhytomyr, Izd-vo ZhGU im. I. Franko, 2018, pp. 23. (in Russian).

Поступила в редакцию 25.02.2022; одобрена после рецензирования 22.05.2022; принята к публикации 08.06.2022
The article was submitted 25.02.2022; approved after reviewing 22.05.2022; accepted for publication 08.06.2022