

Бельская Л.В., Сарф Е.А., Соломатин Д.В.

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛИПИДОВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Омский государственный педагогический университет, 644043, Омск, Россия

*Предложена модификация метода Фолча для количественного определения содержания липидов в биологическом материале; после экстракции липидов смесью хлороформ/этанол проводят определение липидов с использованием ИК спектроскопии. В качестве аналитических полос поглощения выбраны полосы, которые соответствуют валентным и деформационным колебаниям метильных и метиленовых групп липидов и жирных кислот: 1396, 1458, 2853 и 2923 см<sup>-1</sup>. Данные полосы не пересекаются с полосами поглощения белков и нуклеиновых кислот; это позволяет избежать стадии предварительной очистки липидов от нелипидных компонентов. Построена модель многофакторной регрессии, которая позволяет описывать экспериментальные данные с погрешностью, не превышающей 12%.*

**Ключевые слова:** липиды; экстракция; метод Фолча; ИК спектроскопия; диагностика.

**Для цитирования:** Бельская Л.В., Сарф Е.А., Соломатин Д.В. Количественное определение содержания липидов в биологическом материале методом инфракрасной спектроскопии. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (4): 204-209. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-4-204-209>

*Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Solomatina D.V.*

### DETERMINATION OF THE QUANTITATIVE CONTENT OF LIPIDS IN A BIOLOGICAL MATERIAL BY THE METHOD OF IR SPECTROSCOPY

Omsk State Pedagogical University, Omsk, 644043, Russian Federation

*A modification of the Folch method has been proposed for the quantitative determination of lipids in biological material, in which, after extraction of lipids with a chloroform / ethanol mixture, lipids are determined using IR spectroscopy. The bands corresponding to the stretching and deformation vibrations of the methyl and methylene groups of lipids and fatty acids were selected as analytical absorption bands: 1396, 1458, 2853, and 2923 cm<sup>-1</sup>. These bands do not intersect with the absorption bands of proteins and nucleic acids, thus avoiding the stage of preliminary cleaning of lipids from non-lipid impurities. A multifactor regression model was constructed, which allows experimental data to be described with an error not exceeding 12%.*

**Keywords:** lipids; extraction; Falch method; IR spectroscopy; diagnostics.

**For citation:** Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Solomatina D.V. Determination of the quantitative content of lipids in a biological material by the method of IR spectroscopy. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (4): 204-209 (in Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-4-204-209>

**For correspondence:** Bel'skaya L.V., PhD in Chemistry, Associate Professor; e-mail: [ludab2005@mail.ru](mailto:ludab2005@mail.ru)

#### Information about authors:

Bel'skaya L.V., <http://orcid.org/0000-0002-6147-4854>

Sarf E.A., <http://orcid.org/0000-0003-4918-6937>

Solomatina D.V., <http://orcid.org/0000-0002-9356-9890>

**Conflict of interest.** *The authors declare no conflict of interest.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsorship.*

Received 19.01.2019  
Accepted 22.03.2019

В настоящее время не вызывает сомнений необходимость своевременной лабораторной диагностики нарушений метаболизма липидов (дислипидемий) и заболеваний, которые вызваны нарушениями метаболизма липидов [1]. Модификации, повышение точности определения липидов в большинстве методов достигают с помощью процедуры предварительной экстракции и получения прозрачных растворов липидов для их последующей ферментативной оценки [2, 3]. Поскольку липиды – это класс органических веществ, выражено гетерогенных по химической

структуре, следует различать нейтральные липиды (неэтерифицированные жирные кислоты и их эфиры, моно-, ди- и триглицерины, стероиды, воски) и полярные липиды (глицерофосфолипиды, сфинго- и гликолипиды, цереброзиды). При экстракции приходится учитывать способность липидов не только к гидрофобным взаимодействиям, но и к образованию водородных, электростатических и ковалентных связей (сложноэфирных, амидных, гликозидных). Неполярные растворители (хлороформ, бензол, диэтиловый эфир) могут разрушать комплексы, образованные гидрофобными взаимодействиями в жировых клетках, тканях, в хиломикронах, в комплексах альбумина с неэтерифицированными жирными кислотами. Одно-

Для корреспонденции: Бельская Людмила Владимировна, канд. хим. наук; e-mail: [ludab2005@mail.ru](mailto:ludab2005@mail.ru)

Уравнения регрессии для отдельных ПП в ИК спектрах липидов

ПП, см <sup>-1</sup>	Высота пика		Площадь пика	
	Уравнение регрессии	R <sup>2</sup>	Уравнение регрессии	R <sup>2</sup>
1396	$y(A_{1396})=0,0092x-0,3729$	0,9965	$y(B_{1396})=0,0478x-1,042$	0,9878
1458	$y(A_{1458})=0,0188x+1,046$	0,9835	$y(B_{1458})=0,0933x+3,923$	0,9865
2853	$y(A_{2853})=4,33\ln(x)-13,71$	0,9413	$y(B_{2853})=91,24\ln(x)-305,0$	0,9663
2923	$y(A_{2923})=6,58\ln(x)-20,01$	0,9039	$y(B_{2923})=160,43\ln(x)-495,1$	0,9016
2957	$y(A_{2957})=0,0029x+1,6528$	0,7918	$y(B_{2957})=0,0121x+30,292$	0,1972

Примечание.  $y$  – высота/площадь пика,  $x$  – концентрация компонента, мкмоль.

временно полярные растворители (этанол, метанол) разрушают водородные и электростатические связи. Липиды, которые находятся в составе комплексов, образованных ковалентными связями, растворители не экстрагируют [4].

Наиболее распространенным методом экстракции липидов является метод Фолча [5, 6]; это смесь хлороформ – метанол (2:1) из расчета 20 объемов экстрагирующей смеси на одну часть биологического материала. Метод позволяет выделить 90–95% всех липидов из биологических жидкостей, из клеток и тканей. Спирт является необходимым компонентом всех смесей, которые используют при экстракции липидов; спирты разрушают комплексы липидов с белками, растворяют липиды и инактивируют ферменты, которые активируют гидролиз липидов [2]. Недостатком метода является то, что смеси растворителей, которые содержат спирт, экстрагируют также нелипидные вещества (сахара, аминокислоты, соли и т.д.). Для удаления нелипидных примесей экстракт липидов необходимо промывать водой или слабыми солевыми растворами. Однако это приводит к частичной потере кислых липидов, а также, в некоторых случаях, способствует образованию стабильных эмульсий. Очистить липиды от нелипидных примесей можно, пропуская экстракты через колонки, заполненные целлюлозой или сефадексом, используя процедуру диализа через специальные мембраны.

Очистки от нелипидных компонентов (примесей) можно избежать, если использовать метод инфракрасной (ИК) спектроскопии для анализа полученного экстракта [7]. Этот метод достаточно широко

применяют при анализе биологического материала, однако полосы поглощения (ПП), которые соответствуют колебаниям функциональных групп липидов, без предварительной обработки образцов не всегда информативны по причине перекрывания с ПП воды [8–10].

Цель работы – модифицировать метода Фолча для определения содержания липидов в биологическом материале методом ИК-спектроскопии.

**Материал и методы.** Липиды из биологических образцов и модельных растворов для построения градуировочного (калибровочного) графика экстрагированы с использованием раствора Фолча (хлороформ: этанол = 2 : 1 по объему). При анализе биологического материала 200 мкл образца (плазма крови, слюна и т.д.) разбавляли 800 мкл 0,9% NaCl, затем образцы дважды экстрагировали двумя мл раствора Фолча. Объединенную органическую фазу отстаивали в течение 24 часов, после чего центрифугировали при 7 000 об./мин. для более полного разделения фаз. Осторожно декантировали верхний слой и отбирали нижний для определения липидов методом ИК спектроскопии. Аликвоты экстракта объемом 50 мкл высушивали в течение 30 мин. на подложке из селенида цинка в термостате при 37°C. ИК-спектры поглощения регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре «ФТ-801» (фирма Симекс) в диапазоне 500–4000 см<sup>-1</sup>. Запись спектров проводили с числом сканов 32 с разрешением 4 см<sup>-1</sup>.

Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программ Statistica Trial (StatSoft) непа-

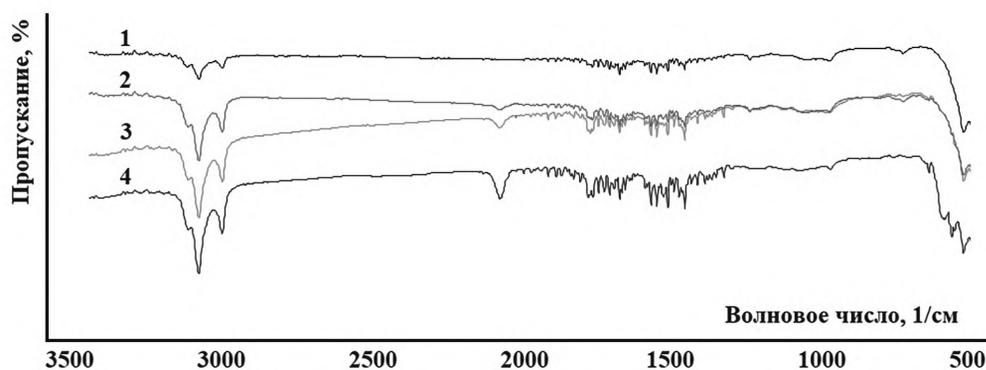
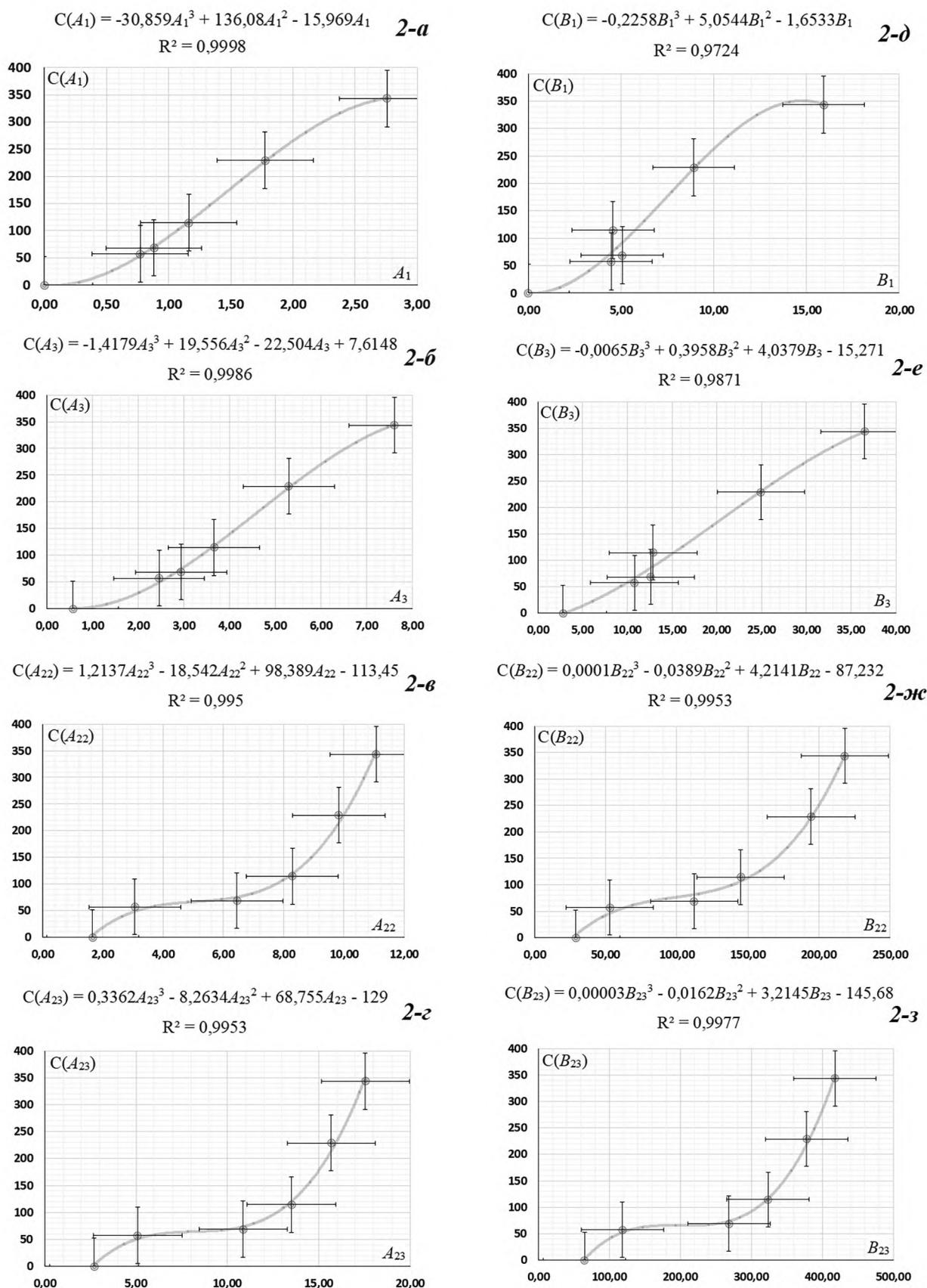


Рис. 1. Построение градуировочного графика для определения содержания липидов.



**Рис. 2.** Результат интерполяции наблюдаемых параметров (а-г – зависимости концентрации липидов от высоты ПП 1396 см<sup>-1</sup> (A<sub>1</sub>), 1458 см<sup>-1</sup> (A<sub>3</sub>), 2853 см<sup>-1</sup> (A<sub>22</sub>), 2923 см<sup>-1</sup> (A<sub>23</sub>); д-ж – зависимости концентрации липидов от площади ПП 1396 см<sup>-1</sup> (B<sub>1</sub>), 1458 см<sup>-1</sup> (B<sub>3</sub>), 2853 см<sup>-1</sup> (B<sub>22</sub>), 2923 см<sup>-1</sup> (B<sub>23</sub>) соответственно).

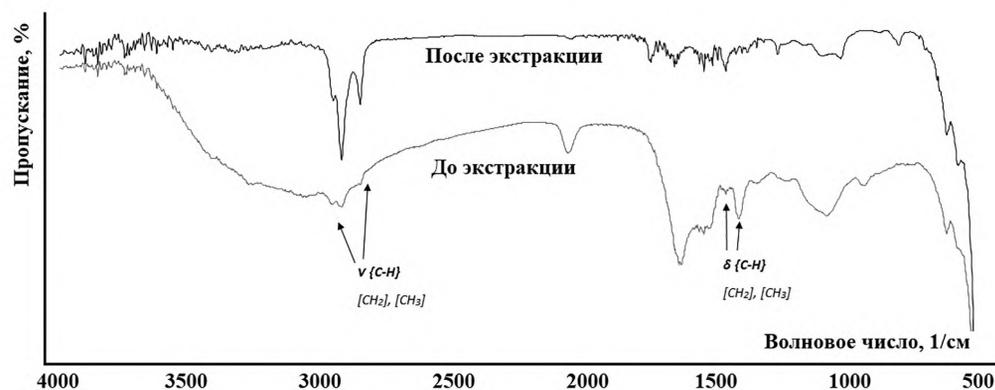


Рис. 3. Пример ИК спектров слюны до и после экстракции липидов.

раметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах -- U-критерия Манна--Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчёта медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го процентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ провели методом Спирмена.

**Результаты и обсуждение.** На первом этапе обработки метода построен градуировочный график для определения липидов, при этом в качестве стандартного образца использовали раствор глицерина с концентрацией 2,29 ммоль/л (АО «Вектор-Бест»). Экстракцию проводили по описанной выше схеме, используя 25, 50, 100 и 150 мкл стандартной пробы (растворы 1-4 соответственно) (рис. 1).

В качестве аналитических ПП выбраны полосы соответствующие валентным ( $\nu_s$  – симметричным,  $\nu_{as}$  – ассиметричным) и деформационным ( $\delta$ ) колебаниям метильных и метиленовых групп липидов и жирных кислот:  $1396\text{ см}^{-1}$  ( $\delta\text{CH}_3$ , обозначены как  $A_1$  и  $B_1$ ),  $1458\text{ см}^{-1}$  ( $\delta\text{CH}_2$ ,  $A_3$  и  $B_3$ ),  $2853\text{ см}^{-1}$  ( $\nu\text{CH}_3$ ,  $A_{22}$  и  $B_{22}$ ),  $2923\text{ см}^{-1}$  ( $\nu_{as}\text{CH}_2$ ,  $A_{23}$  и  $B_{23}$ ) и  $2957\text{ см}^{-1}$  ( $\nu_{as}\text{CH}_3$ ,  $A_{24}$  и  $B_{24}$ ) [11, 12]. Параллельно провели измерение высоты ( $A$ ) и площади ( $B$ ) соответствующих пиков на ИК-спектрах образцов.

Для каждой ПП получены уравнения регрессии, согласно которым максимальные значения коэффициентов корреляции соответствуют деформационным колебаниям, тогда как минимальные ПП  $2957\text{ см}^{-1}$ , не учитывали в дальнейшем при построении модели множественной регрессии (см. таблицу).

Получаемые в экспериментальных исследованиях табличные функции несут мало информации. Они определены только в узлах сетки, а их значения в промежуточных точках и даже значения производных в узлах не известны. Однако если значения функции должны быть известны при любом значении аргумента и в самих узлах совпадать с табличными значениями, то данную проблему можно решить с помощью приемов теории приближений. В вычислительной математике нередко одну функцию удается заменить другой,

более информативной для дальнейшей работы, принимая во внимание тот факт, что через любые  $n$  заданных точек проходит график полиномиальной функции порядка  $n-1$ . На рис. 2, а-з изображены соответствующие графики, которые найдены методами функциональной интерполяции для данных из таблицы. При этом очевидно, что интерполяционный многочлен меньшей степени не существует, а большей существует, но не единственен. Именно поэтому интерполяцию стандартно производят многочленами, степень которых на единицу меньше количества узловых точек.

Проанализировав взаимозависимости наблюдаемых величин, остается выбрать модель многофакторной регрессии. Проще всего сопутствующая тому задача оценки решается для моделей с гомоскедастичными независимыми остатками. На случай многомерных рядов переносятся результаты, связанные с оценением необходимого набора регрессоров, в частности, легко получить предельное распределение оценки степени конструируемого полинома [13–15]. Взяв средневзвешенное значение интерполяционных многочленов, с весовыми коэффициентами  $R^2$ , уравнение регрессии примет вид:

$$C = -60,56 - 3,885 \cdot A_1^3 + 17,13 \cdot A_2^2 - 2,010 \cdot A_1 - 0,1782 \cdot A_3^3 + 2,459 \cdot A_2^2 - 2,829 \cdot A_1 + 0,15207 \cdot A_2^2 - 2,3232 \cdot A_2^2 + 12,327 \cdot A_{22}^2 + 0,042137 \cdot A_{23}^3 - 1,0356 \cdot A_{23}^2 + 8,6173 \cdot A_{23} - 0,027649 \cdot B_1^3 + 0,61891 \cdot B_1^2 - 0,20244 \cdot B_1 - 0,00080795 \cdot B_3^3 + 0,049198 \cdot B_3^2 + 0,50191 \cdot A_3 + 0,0000125333 \cdot B_{22}^3 - 0,00487548 \cdot B_{22}^2 + 0,528168 \cdot B_{22} + 0,00000376907 \cdot B_{23}^3 - 0,00203530 \cdot B_{23}^2 + 0,403856 \cdot B_{23}$$

Показано, что погрешность данного уравнения не превышает 16%; при этом наибольший вклад в формирование погрешности вносят параметры  $B_1$  и  $B_3$ . Составляя аналогичное уравнение без этих параметров, обеспечивающее в области  $(0; 0; 1; 2; 29; 65) \leq (A_1; A_3; A_{22}; A_{23}; B_{22}; B_{23}) < (3; 8; 12; 18; 219; 419)$  погрешность не более 12%:

$$C = -77,87 - 5,157 \cdot A_1^3 + 22,74 \cdot A_2^2 - 2,669 \cdot A_1 - 0,2367 \cdot A_3^3 + 3,264 \cdot A_3^2 - 3,756 \cdot A_3 + 0,20188 \cdot A_{22}^3 - 3,0842 \cdot A_{23}^2 + 16,366 \cdot A_{23}^3 + 0,055940 \cdot A_{23}^3 - 1,3749 \cdot A_{23}^2 + 11,440 \cdot A_{23} + 0,0000166390 \cdot B_{22}^3 - 0,00647260 \cdot B_{22}^2 + 0,701187 \cdot B_{22} + 0,00000500376 \cdot B_{23}^3 - 0,0270203 \cdot B_{23}^2 + 0,536153 \cdot B_{23}$$

Данная формула позволяет разработать компьютер-

ный метод, который предназначен для оценки результатов влияния описывающих ситуацию факторов на итоговые показатели и друг на друга. Этот метод использует математическую модель многомерного ряда, в которой коэффициенты непосредственного влияния факторов друг на друга и начальные условия задаются интерполяционно. Основные составляющие этого метода следующие: сначала экспериментальным путем определяется список факторов, которые необходимо учитывать при анализе, в данном случае это численные характеристики ИК спектров образцов. Основная часть перечисленных в модели факторов носит не качественный, а количественный характер, при этом обладает устойчивостью информации о наблюдаемой величине и отражает ее способность реагировать на изменения исходных данных без нарушения необходимой точности. Далее определяем необходимые для работы модели начальные уровни факторов, соответствующие начальному состоянию изучаемого объекта (проведение оцифровки переменных). Затем составляем схему непосредственных влияний факторов друг на друга, оценивая степень непосредственных влияний. И, наконец, просчитываем итерации (опосредованные влияния второго, третьего и т. д. уровней, которые соответствуют второму, третьему и т. д. параметрам), вплоть до формирования стабильного состояния. Результат работы модели показывает конечные уровни факторов в виде мультипликативных константных значений с погрешностью близкой к нулевой. Дополнительно проведена проверка работоспособности методики методом «введено-найдено». Для этого в 5 образцов слюны дополнительно ввели 25 мкл глицерина с концентрацией 2,29 ммоль/л. Во всех случаях проведено определение концентрации липидов с погрешностью, которая не превышала 5,7%.

Таким образом, предложенный метод позволяет без стадии очистки липидов от нелипидных примесей проводить количественное определение липидов в биологическом материале, поскольку ПП, соответствующие колебаниям метильных и метиленовых групп липидов не пересекаются с ПП белков и нуклеиновых кислот. В качестве примера приведены ИК спектры слюны до и после экстракции липидов (рис. 3).

На следующем этапе проведено параллельное определение концентрации липидов в образцах слюны 30 здоровых добровольцев методом ИК спектроскопии и традиционным ферментативным методом с использованием набора «Триглицериды-Ново» («Вектор-Бест», г. Новосибирск). Установлено, что в первом случае содержание липидов составило 0,038 [0,025; 0,062] ммоль/л, тогда как во втором – 0,044 [0,032; 0,054] ммоль/л, при этом корреляция между значениями, определенными разными методами статистически достоверна ( $r=0,7815$ ). Более высокое значение концентрации липидов, определенное ферментативным методом, может быть объяснено отсутствием этапа экстрагирования липидов, с одной стороны. С другой стороны, несмотря на низкое содержание липидов в слюне, некоторые образцы дают завышенное значение из-за мутности слюны, которая опять же обусловлена

отсутствием экстракции и стадии очистки от нелипидных примесей. Таким образом, мы определили концентрация липидов с погрешностью 13,6% по сравнению с традиционным методом. Это позволило нам применить предложенную модификацию метод ИК спектроскопии для количественной и полуколичественной оценки содержания липидов в биологических образцах.

Показано, что интенсивности ПП липидов существенно возрастают, что в свою очередь обеспечивает большую точность определения характеристик спектров (высоты, площадь пиков) и может дать ценную информацию об изменениях в структуре липидов, в процессе становления афизиологических процессов в организме человека (рис. 3). В частности, известно, что интервал  $3050-2800\text{ см}^{-1}$ , который содержит колебания метильных и метиленовых групп насыщенных и ненасыщенных алкильных цепей, может оказаться полезным для оценки проницаемости мембран клеток, а также процессов окислительной модификации белков [16]. Потенциально информативным может быть отношение интенсивностей  $2955/2921\text{ см}^{-1}$ , которое показывает соотношение разветвленных и неразветвленных молекул липидов и жирных кислот ( $\text{CH}_3/\text{CH}_2$ ). Например, на фоне онкологической патологии это соотношение ниже, чем в норме [17], что указывает на менее разветвленные цепи и /или более длинные цепи липидов и жирных кислот в данном случае по сравнению с нормой.

**Заключение.** С применением предложенной модификации метода ИК спектроскопии при дальнейшем его совершенствовании будет возможно определять не только общее содержание липидов в биологических средах, но и рассчитывать соотношения интенсивностей ПП в спектрах. Это позволит нам получать более существенную информацию для диагностического процесса.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ариповский А.В., Колесник П.О., Веждел М.И., Титов В.Н. Метод подготовки проб для газохроматографического определения жирных кислот без предварительной экстракции липидов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 1: 3-6.
2. Канская Н.В., Иванов В.В., Степовая Е.А., Позднякова И.А., Федорова Н.А. Модификация способа определения липидов. *Сибирский медицинский журнал*. 2014; 29 (1): 69-73.
3. Jeannotte R., Hamel C., Jabaji S., Whalen J.K. Comparison of solvent mixtures for pressurized solvent extraction of soil fatty acid biomarkers. *Talanta*. 2008; 77: 195-9.
4. Ichihara K., Yamaguchi C., Araya Y., Sakamoto A., Yoneda K. Preparation of fatty acid methyl esters by selective methanolysis of polar glycerolipids. *Lipids*. 2010; 45 (4): 367-74.
5. Yin H., Cox B.E., Liu W., Porter N.A., Morrow J.D., Milne G.L. Identification of intact oxidation products of glycerophospholipids in vitro and in vivo using negative ion electrospray iontrap mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 2009; 44: 672-80.
6. Guo S., Lu J., Zhuo Y., Xiao M., Xue X., Zhong S., Shen X., Yin C., Li L., Chen Q., Zhu M., Chen B., Zhao M., Zheng L., Tao Y., Yin H. Endogenous cholesterol ester hydroperoxides modulate cholesterol

- levels and inhibit cholesterol uptake in hepatocytes and macrophages. *Redox Biology*. 2019; 21: 101069.
- Oleszko A., Olsztyńska-Janus S., Walski T., Grzeszczuk-Kuć K., Bujok J., GaBecka K., Czernski A., Witkiewicz W., Komorowska M. Application of FTIR-ATR Spectroscopy to Determine the Extent of Lipid Peroxidation in Plasma during Haemodialysis. *BioMed Research International*. 2015. Article ID 245607, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/245607>
  - Олесько А., Олсзтыńska-Janус S., Валски Т., Грzeszczuk-Kuć К., Бужок J., ГаБеcka К., Чzerski А., Witkiewicz W., Komorowska M. Application of FTIR-ATR Spectroscopy to Determine the Extent of Lipid Peroxidation in Plasma during Haemodialysis. *BioMed Research International*. 2015. Article ID 245607, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/245607>
  - Джатдоева А.А., Полимoва А.М., Прoскурина Е.В., Прoскурин М.А., Владимиров Ю.А. Определение липидов и продуктов их окисления методом ИК-спектроскопии. *Журнал аналитической химии*. 2016; 76 (6): 570-6.
  - Olsztyńska-Janus S., Pietruszka A., Kielbowicz Z., Czarnecki M.A. ATR-IR study of skin components: Lipids, proteins and water. Part I: Temperature effect. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2017; 188: 37–49.
  - Orphanou C.-M. The Detection and Discrimination of Human Body Fluids Using ATR FT-IR Spectroscopy". *Forensic Science International*. 2015;252: e10-e16.
  - Dreissig I., Machill S., Salzer R., Krafft C. Quantification of brain lipids by FTIR spectroscopy and partial least squares regression. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2009; 71 (5): 2069–75.
  - Rohman A., Che Man Y.B. Application of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy combined with Chemometrics for authentication of cod-liver oil. *Vibrational Spectroscopy*. 2011; 55 (2) 141–5.
  - Brown T.A. Confirmatory Factor Analysis for Applied Research. Methodology in the Social Sciences edition. 2<sup>nd</sup> Edition. Guilford Publications; 2006.
  - Fabrigar L.R., Wegener D.T., Exploratory Factor Analysis (Understanding Statistics). 1st Edition. Oxford University Press; 2011.
  - Zhang L., Zeigler B.P., LaiLi Y. Model Engineering for Simulation. 1st Edition. Academic Press; 2019.
  - Petibois C., Déléris G. Chemical mapping of tumor progression by FT-IR imaging: towards molecular histopathology. *Trends in Biotechnology*. 2006; 24 (10): 455–62.
  - Sheng D., Xu F., Yu Q., Fang T., Xia J., Li S., Wang X. A study of structural differences between liver cancer cells and normal liver cells using FTIR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* 2015; 1099:18–23.
  - Jeannotte R., Hamel C., Jabaji S., Whalen J.K. Comparison of solvent mixtures for pressurized solvent extraction of soil fatty acid biomarkers. *Talanta*. 2008; 77: 195-9.
  - Ichihara K., Yamaguchi C., Araya Y., Sakamoto A, Yoneda K. Preparation of fatty acid methyl esters by selective methanolysis of polar glycerolipids. *Lipids*. 2010; 45 (4): 367–74.
  - Yin H., Cox B.E., Liu W., Porter N.A., Morrow J.D., Milne G.L. Identification of intact oxidation products of glycerophospholipids in vitro and in vivo using negative ion electrospray iontrap mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 2009; 44: 672–80.
  - Guo S., Lu J., Zhuo Y., Xiao M., Xue X., Zhong S., Shen X., Yin C., Li L., Chen Q., Zhu M., Chen B., Zhao M., Zheng L., Tao Y., Yin H. Endogenous cholesterol ester hydroperoxides modulate cholesterol levels and inhibit cholesterol uptake in hepatocytes and macrophages. *Redox Biology*. 2019; 21: 101069.
  - Oleszko A., Olsztyńska-Janus S., Walski T., Grzeszczuk-Kuć K., Bujok J., GaBecka K., Czernski A., Witkiewicz W., Komorowska M. Application of FTIR-ATR Spectroscopy to Determine the Extent of Lipid Peroxidation in Plasma during Haemodialysis. *BioMed Research International*. 2015. Article ID 245607, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/245607>
  - Dzhatdoyeva A.A., Polimova A.M., Proskurina Ye.V., Proskurin M.A., Vladimirov YU.A. Determination of lipids and their oxidation products using IR spectroscopy. *Zhurnal analiticheskoy khimii*. 2016; 76 (6): 570-6. (in Russian)
  - Olsztyńska-Janus S., Pietruszka A., Kielbowicz Z., Czarnecki M.A. ATR-IR study of skin components: Lipids, proteins and water. Part I: Temperature effect. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2017; 188: 37–49.
  - Orphanou C.-M. The Detection and Discrimination of Human Body Fluids Using ATR FT-IR Spectroscopy". *Forensic Science International*. 2015;252: e10-e16.
  - Dreissig I., Machill S., Salzer R., Krafft C. Quantification of brain lipids by FTIR spectroscopy and partial least squares regression. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2009; 71 (5): 2069–75.
  - Rohman A., Che Man Y.B. Application of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy combined with Chemometrics for authentication of cod-liver oil. *Vibrational Spectroscopy*. 2011; 55 (2) 141–5.
  - Brown T.A. Confirmatory Factor Analysis for Applied Research. Methodology in the Social Sciences edition. 2<sup>nd</sup> Edition. Guilford Publications; 2006.
  - Fabrigar L.R., Wegener D.T., Exploratory Factor Analysis (Understanding Statistics). 1st Edition. Oxford University Press; 2011.
  - Zhang L., Zeigler B.P., LaiLi Y. Model Engineering for Simulation. 1st Edition. Academic Press; 2019.
  - Petibois C., Déléris G. Chemical mapping of tumor progression by FT-IR imaging: towards molecular histopathology. *Trends in Biotechnology*. 2006; 24 (10): 455–62.
  - Sheng D., Xu F., Yu Q., Fang T., Xia J., Li S., Wang X. A study of structural differences between liver cancer cells and normal liver cells using FTIR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* 2015; 1099:18–23.

## REFERENCES

- Aripovskiy B., Kolesnik P.O., Vezhdel M.I., Titov V.N. The method of sample preparation for gas chromatographic determination of fatty acids without preliminary extraction of lipids. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; 1: 3-6. (in Russian)
- Kanskaya N.V., Ivanov V.V., Stepovaya Ye.A., Pozdnyakova I.A., Fedorova N.A. Modification of the method of determining lipids. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 29 (1): 69-73. (in Russian)

Поступила 27.02.19  
Принята к печати 20.03.19