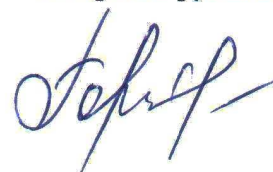


Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова»
Бийский технологический институт (филиал)

На правах рукописи



Горемыкина Наталья Владимировна

**ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ И МЕТОДА ИДЕНТИФИКАЦИИ
ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА И ТОВАРОВЕДНАЯ ОЦЕНКА
ПРОДУКТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ**

Специальность 05.18.15 – Технология и товароведение пищевых продуктов и функционального и специализированного назначения и общественного питания

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
А.Л. Верещагин

Бийск – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР	11
1.1 Технология получения облепихового масла.....	11
1.2 Методы определения подлинности облепихового масла на основе анализа триглицеридного состава.....	16
1.2.1 Хроматографические методы.....	16
1.2.2 Масс-спектрометрия.....	27
1.2.3 Спектрометрия ядерного магнитного резонанса.....	29
1.2.4 Метод инфракрасной спектроскопии.....	32
1.2.5 Метод дифференциальной сканирующей колориметрии.....	34
1.2.6 Метод ферментативного гидролиза.....	37
1.3 Анализ данных по жирнокислотному и триглицеридному составу облепихового масла.....	40
1.4 Анализ товарного предложения продуктов на основе облепихи.....	47
ГЛАВА 2. ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	52
.....	
2.1 Организация эксперимента и общая схема исследований.....	52
2.2 Объекты и методы исследования.....	55
ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЛИЦЕРИДНОГО СОСТАВА КОНЦЕНТРАТА ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА..	70
3.1 Оценка возможности использования метода дифференциальной сканирующей калориметрии.....	70
3.2 Разработка экспресс-метода ГЖХ для определения состава триглицеридов.....	74
.....	
3.3 Применение экспресс-метода ГЖХ для определения состава	

триглицеридов.....	78
.....	
3.3.1 Сравнительный анализ глицеридного состава облепиховых масел разных производителей.....	78
3.3.2 Влияния способа выделения масла на глицеридный состав.....	81
3.3.3 Влияние исходного сырья на глицеридный состав масла.....	84
3.3.4 Идентификация смесей облепихового и подсолнечного масла.....	86
3.3.5 Стандартизация требований к концентрату облепихового масла.....	91
ГЛАВА 4. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА КОНЦЕНТРАТА ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА	92
4.1 Выявление критической стадии в процессе производства.....	92
4.2 Разработка технологической стадии удаления экстрагента.....	96
4.3 Влияния метода удаления экстрагента на качество концентрата облепихового	масла 97
.....	
4.4 Влияния метода удаления экстрагента на сохраняемость концентрата облепихового	масла 100
.....	
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА РЕЦЕПТУР И ТОВАРОВЕДНАЯ ОЦЕНКА ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА	106
.....	
5.1 Разработка рецептуры и товароведная оценка драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка»	106
5.2 Разработка рецептуры и товароведная оценка драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	123
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	126
ПРИЛОЖЕНИЕ А Методика определения состава триглицеридов облепихового	масла 148

концентрата.....	
ПРИЛОЖЕНИЕ Б Протокол/отчет валидации методики	149
ПРИЛОЖЕНИЕ В Технические условия «Масло облепиховое концентрат из разных частей растения».....	162
ПРИЛОЖЕНИЕ Г Технические условия «Масло облепиховое концентрат полученный по разной технологии (экстракцией, центрифугированием и ферментативным гидролизом)».....	163
ПРИЛОЖЕНИЕ Д Технические условия «Масло облепиховое концентрат «Экстра».....	164
ПРИЛОЖЕНИЕ Е Технологическая инструкция «Масло облепиховое концентрат «Экстра».....	165
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж Акт внедрения материалов диссертации на ЗАО «Алтайвитамины».....	166
.....	
ПРИЛОЖЕНИЕ И Акт внедрения материалов диссертации в учебный процесс БТИ АлтГТУ.....	167
ПРИЛОЖЕНИЕ К Матричная оценка риска. План матрицы управления рисками.....	168
.....	
ПРИЛОЖЕНИЕ Л Технические условия «Драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка».....	169
ПРИЛОЖЕНИЕ М Технические условия «Драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло».....	170

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Обеспечение населения высококачественными и сбалансированными продуктами питания является приоритетным направлением политики Правительства РФ [82]. В связи с этим возникает вопрос поиска новых перспективных методов определения биологически активных веществ в местном растительном сырье.

Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides L.*) интересна своим уникальным химическим составом. Наиболее ценным продуктом ее переработки является облепиховое масло, широко применяемое в медицине благодаря уникальному составу триглицеридов.

Основным показателем качества концентрата облепихового масла считают «Содержание каротиноидов» не менее 300 мг %. Наряду с этим, подлинность концентрата должна быть подтверждена определенным жирно-кислотным составом, однако действующий метод газовой хроматографии (ГХ) основан на разрушении триглицеридов на отдельные жирные кислоты, что не дает возможности определить первоначальный состав глицеридов облепихового масла [19].

В промышленном масштабе основным критерием характеристики метода является выход продукта. Биологическая активность, обусловленная составом триглицеридов, как критерий выбора оптимального метода изучена недостаточно. Также мало изучен глицеридный состав облепихового масла, выделенного из разных частей растения, что представляет интерес для идентификации масла различного происхождения.

Критическими показателями безопасности облепихового масла являются перекисное и кислотные числа, поэтому с целью понижения кислотности распространен способ фальсификации концентрата облепихового масла путем разбавления его подсолнечным маслом. Действующая в настоящее время нормативная документация не позволяет идентифицировать данный фальсифицированный продукт.

Биологически активные вещества облепихового масла – триглицериды, разрушаются при воздействии температур и технологических операций. Поэтому «доставка» в организм облепихового масла с максимально сохраненной биологической активностью в составе доступных продуктов функционального питания представляет интерес для исследования.

Таким образом, разработка новых технологий, методов выявления фальсификации концентрата облепихового масла и разработка новых продуктов с максимальной биологической активностью являются приоритетной задачей пищевой промышленности, так как определение состава триглицеридов позволит получить достоверную информацию о биологической активности облепихового масла. Учитывая значение продуктов из облепихи в реализации государственной политики Российской Федерации в области здорового питания и отсутствие научно-практического обоснования введения триглицеридов различного состава в продукты функциональной направленности, тема исследования представляется актуальной.

Степень разработанности темы исследования. Изучением состава облепихового масла и продуктов на его основе с целью стандартизации занимались многие авторы (Пантелеева Е.И., Хабаров С.Н., Зубарев Ю.А., Кошелев Ю.А., Верещагин А.Г., Цыдендембаев В.Д., Типсина Н.Н, Терещук Л.В., Дейнека В.И., Зинченко А.А., Миронов В.А., Рудаков А.Б., Рабаданов Г.А., Эйдельмант А.С., Mörsel J-T, Yang B, Kallio H., Singh V. и др). Ими рассмотрены основные подходы к изучению состава облепихового масла и к разработке продуктов функционального назначения.

Прямые методы исследования глицеридного состава облепихового масла осложнены их высокими температурами кипения, поэтому о жирно-кислотном составе облепихового масла судят по косвенной информации – составу метиловых эфиров жирных кислот. Эти данные не отражают реальный состав и не могут быть использованы для оценки биологической активности облепихового масла [36].

Применением продуктов переработки облепихи при производстве лекарственных препаратов и биологически активных добавок занимались множество авторов [112, 150]. При этом отсутствуют сведения о качестве используемых в пищевой промышленности полупродуктов.

Целью работы является разработка технологии и метода контроля подлинности концентрата облепихового масла и продуктов на его основе.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

- изучить возможность применения новых методов ДСК (дифференциальной сканирующей калориметрии) и ГЖХ (газо-жидкостной хроматографии) для определения подлинности и изучения состава концентрата облепихового масла. Разработать и валидировать метод ГЖХ для определения состава триглицеридов в концентрате облепихового масла;

- исследовать влияние технологии выделения, состава исходного сырья и способа удаления экстрагента на состав глицеридов концентрата облепихового масла;

- разработать рецептуры драже на основе концентрата облепихового масла, дать товароведную характеристику новых продуктов в течение срока годности, определить регламентируемые показатели;

- разработать и утвердить НТД на концентрат масла облепихового, новые виды драже, провести апробацию рецептур и технологий в условиях промышленного производства.

Научная новизна:

- разработана и апробирована экспресс-методика определения состава триглицеридов в концентрате облепихового масла методом высокотемпературной ГЖХ, исключая предварительную пробоподготовку и позволяющая сократить время испытаний в 2 раза (п.9 паспорта специальности ВАК 05.18.15);

- установлено влияние технологии выделения и состава исходного сырья на глицеридный состав концентрата облепихового масла. По содержанию трипальмитолеина методы выделения располагаются в порядке: ферментативный

гидролиз (41,06 %) > центрифугирование (36,67%) > экстракция (31,28 %); источники сырья располагаются в следующем порядке: кожура (32,9 %)> жом (29,1 %) > листья (18,8 %) > семена (8,58 %) > почки (1,5 %) (п.10 паспорта специальности ВАК 05.18.15);

- предложена усовершенствованная технология производства концентрата облепихового масла, обеспечивающие получение продукта с увеличенным сроком годности (п.5 паспорта специальности ВАК 05.18.15);

- научно обоснованы рецептуры и технология производства драже – витаминизированного «Виталайф «Облепишка» и мягкого в капсулах «Облепиховое масло», позволяющие обеспечить высокие потребительские свойства, безопасность и функциональную направленность драже (п.11 паспорта специальности ВАК 05.18.15).

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость заключается в обосновании использования нового экспресс-метода определения триглицеридов жирных кислот в концентрате облепихового масла по сравнению с действующей методикой, отличающейся длительной пробоподготовкой и новой технологии с использованием азота на стадии удаления экстрагента.

Полученная информация о составе триглицеридов концентрата облепихового масла использована как дополнительный показатель качества и включена в методику М-ОКК.Ан-Мс-615 «Определение состава триглицеридов облепихового масла концентрата» (Приложение А). Достоверность методики подтверждена протоколом валидации РV-М-ОКК.Ан-Мс-615 «Протокол / отчет валидации аналитической методики – Определение состава триглицеридов облепихового масла концентрата» (Приложение Б).

Разработаны технические условия на концентрат облепихового масла (ТУ 9141-121-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат из разных частей растения», ТУ 9141-123-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат, полученный по разной технологии (экстракцией, центрифугированием и ферментативным гидролизом)» (Приложения В,Г).

Определены регламентируемые параметры производства концентрата облепихового масла, положенные в основу технологической инструкции и ТУ 9141-122-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат «Экстра» (Приложения Д, Е).

Разработаны ТУ 9141-124-05783969-2016 «Драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка» (Приложение Л) и ТУ 9141-125-05783969-2016 «Драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло» (Приложение М) в которых установлены регламентируемые показатели качества для проведения комплексной товароведной оценки драже.

Результаты научной работы используются в учебном процессе на кафедре общей химии и экспертизы товаров в Бийском технологическом институте (филиале) ФГБОУ ВО «Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова» при обучении студентов по направлениям «Товароведение», «Продукты переработки растительного сырья» и «Биотехнология».

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертации являются труды отечественных и зарубежных ученых по вопросам обоснования технологии, оценки качества облепихового масла и разработки пищевых продуктов функциональной направленности на его основе.

Положения, выносимые на защиту:

- теоретическое и практическое обоснование возможности идентификации концентрата облепихового масла и его смесей с подсолнечным маслом методом дифференциальной сканирующей калориметрии;

- методика идентификации моно -, ди-, триглицеридных комплексов облепихового масла концентрата и его смесей методом ГЖХ;

- подтверждение влияния технологии выделения и состава исходного сырья на триглицеридный состав концентрата облепихового масла и усовершенствование технологии производства концентрата облепихового масла;

- способ увеличения срока годности концентрата облепихового масла за счет применения азота на стадии удаления экстрагента;

- рецептуры и технология производства драже с концентратом облепихового масла.

Апробация работы. Основные результаты исследований представлялись и обсуждались на научных конференциях различного уровня, в том числе: VIII международная научно-практическая конференция «Аграрная наука – сельскому хозяйству» (Барнаул, 2013), X Международная научно-практическая конференция «Пища. Экология. Качество» (Краснообск, 2013), Всероссийская научно-практическая конференция «Товарный консалтинг и аудит потребительского рынка» (Бийск, 2014, 2016), Всероссийская научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (Бийск, 2015), Международная конференция ассоциации по облепихе «Облепиха - новые технологии для охраны здоровья и окружающей среды» (Индия, Нью-Дели, 2015), XI международная научно-практическая конференция «Аграрная наука – сельскому хозяйству» (Барнаул, 2016)

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 14 печатных работ, в том числе 6 – в журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки РФ.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 147 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения, списка литературы и приложений; включает 40 таблиц и 26 рисунков. Список литературы составляет 185 источников.

ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

Всемирную славу облепихе принесло содержащееся в мякоти ее плодов, семенах, листьях и даже коре масло. Масло – естественный концентрат каротинов, токоферолов, филлохинонов, фитостеролов, полиненасыщенных жирных кислот (ω -3, ω -6 и ω -7), фосфолипидов и других биологически активных веществ и витаминов, готовый лечебный препарат, обладающий разносторонними терапевтическими свойствами и лишенный вредных побочных действий [112, 153]. Содержание масла в мякоти плодов облепихи, культивируемой на Алтае, колеблется от 4,4 до 7,2 мг/100 г свежих плодов в зависимости от сорта и года сбора урожая [122].

1.1 Технология получения облепихового масла

К настоящему времени разработано множество различных вариантов технологических схем получения облепихового масла. Принципиально их можно разделить на две группы: отделение масла (прессованием, центрифугированием, сепарированием) и экстракция. Существуют комплексные схемы переработки плодов облепихи, в которых масло мякоти извлекают центрифугированием, а масло семян экстракцией [146].

При отжати дробленых плодов в сок неизбежно переходит часть плодовой мякоти и масло, которое принято называть прессовым. Выход его зависит от многих факторов, в том числе степени измельчения и способа отжатия. В наиболее простом варианте мякоть сока (мезгу) подвергали длительной термообработке (от 85 °С до 95 °С) с перемешиванием (от 18 до 25 часов) и последующим отстаиванием. Сверху образовывался слой свободного прессового масла, ниже слой мякоти, смешанной с маслом, затем свободный сок и внизу осадок, практически не содержащий масло. Верхний слой масла снимали вручную. Для выделения масла из второго слоя массу разбавляли многократно

горячей водой и сепарировали. Общий выход масла составил от 55 % до 70 % [50].

Согласно другой схеме плоды облепихи измельчали, разделяли центрифугированием на твердую фазу и сок с маслом, последнее отделяли сепарацией. Недостатком данного метода является низкий выход масла и сложность подбора оборудования. Увеличению выхода масла способствует ультразвуковая обработка на стадии измельчения [14], предварительное сбраживание пасты, использование ферментных препаратов и повышение температуры в процессе разделения [150]. Под действием природных ферментов происходит расщепление клеточной структуры ткани плодов и высвобождение каротиноидов и масла из липохромопротеиновых комплексов. Существует ряд работ, посвященных подбору оптимальных условий ферментативного получения облепихового масла и исследованию его свойств [140].

Экстракционный метод с использованием низкокипящих неполярных растворителей, которые с помощью современной аппаратуры могут быть полностью удалены из продукта – единственный метод, гарантирующий полное извлечение масла из растительного сырья. В качестве экстрагентов используются различные органические растворители, такие как: гексан, петролейный эфир, хлористый метилен, ацетон, дихлорэтан. Выход масла от веса жома был примерно одинаков по всем экстрагентам (от 25 % до 31 %), несколько ниже с петролейным эфиром (от 22 % до 24 %). Было отмечено, что масло, экстрагированное техническим хлористым метиленом, содержало гораздо меньше каротиноидов, чем экстрагированное петролейным эфиром, тогда как при использовании свежеперегнанного хлористого метилена, наоборот, содержание каротиноидов в масле было гораздо выше, чем во всех других случаях. В лабораторных опытах степень извлечения масла и каротиноидов свежеперегнанным хлористым метиленом составила от 95 % до 98 %, поэтому этот растворитель был предварительно выбран как наиболее подходящий для извлечения облепихового масла. Однако, двукратные биологические испытания масла, полученного таким способом, показали, что при отсутствии токсичности его лечебное действие

гораздо ниже, чем у масла, полученного диффузионным методом. Кроме того, к основным проблемам данного метода можно отнести: сложность удаления остатков растворителя из масла и шрота; пожароопасность экстрагентов (за исключением хлористого метилена); токсичность растворителей [83, 55, 90].

Алтымашев А.А. и соавторы в 1982 году предложил для извлечения облепихового масла из сырых плодов использовать в качестве экстрагента растительное масло, что исключает стадию удаления растворителя. Таким методом получают облепиховое масло с содержанием каротиноидов от 170 мг% до 180 мг% и кислотным числом от 12 до 13 [4]. Подсолнечное масло используется в качестве экстрагента при получении облепихового масла из сухого жома в батарее диффузоров. [47]. Недостатками данного метода является высокий расход подсолнечного масла, потери 20 % каротиноидов и сложность отделения облепихового масла от подсолнечного [114]. Для увеличения выхода масла и каротиноидов используют различные технологии измельчения ягод и сухого жома [2, 65], гомогенизацию сока и масла действием образующегося при сушке пара воды до момента расслоения масла и сухого остатка во время сушки [66].

С целью более полного извлечения масла последнее время разрабатываются методы сверхкритической флюидной экстракции, наиболее распространенным экстрагентом в этом случае является углекислый газ под высоким давлением [180]. Применение сжиженных и сжатых газов имеет ряд преимуществ перед традиционными методами: возможность селективной экстракции целевых компонентов; минимальное количество балластных веществ в экстрактах; условия удаления растворителя при конечном центрировании мисцеллы позволяют сохранять лабильные и легколетучие компоненты. Сжиженный углекислый газ, безвреден для здоровья людей; обладает бактерицидными свойствами, низкой стоимостью, является отходом многих технологических производств и может быть получен непосредственно на месте потребления [8]. Полученное таким способом масло характеризовалось низким содержанием каротиноидов (59 мг%) и высоким кислотным числом (34 миллиграмма КОН на 1 грамм масла) [108], но

препараты на его основе обладают повышенной репаративной активностью и увеличенной стабильностью [166].

В настоящее время на предприятии ЗАО «Алтайвитамины» используется схема фреоновой экстракции (хладон-22), представленная на рисунке 1.1. По данному методу необходима предварительная комплексная переработка свежих плодов облепихи для получения сухого жома. Все соки, полученные в ходе технологического процесса, направляются в сепаратор с целью извлечения маслосодержащей мякоти, которая так же сушится.

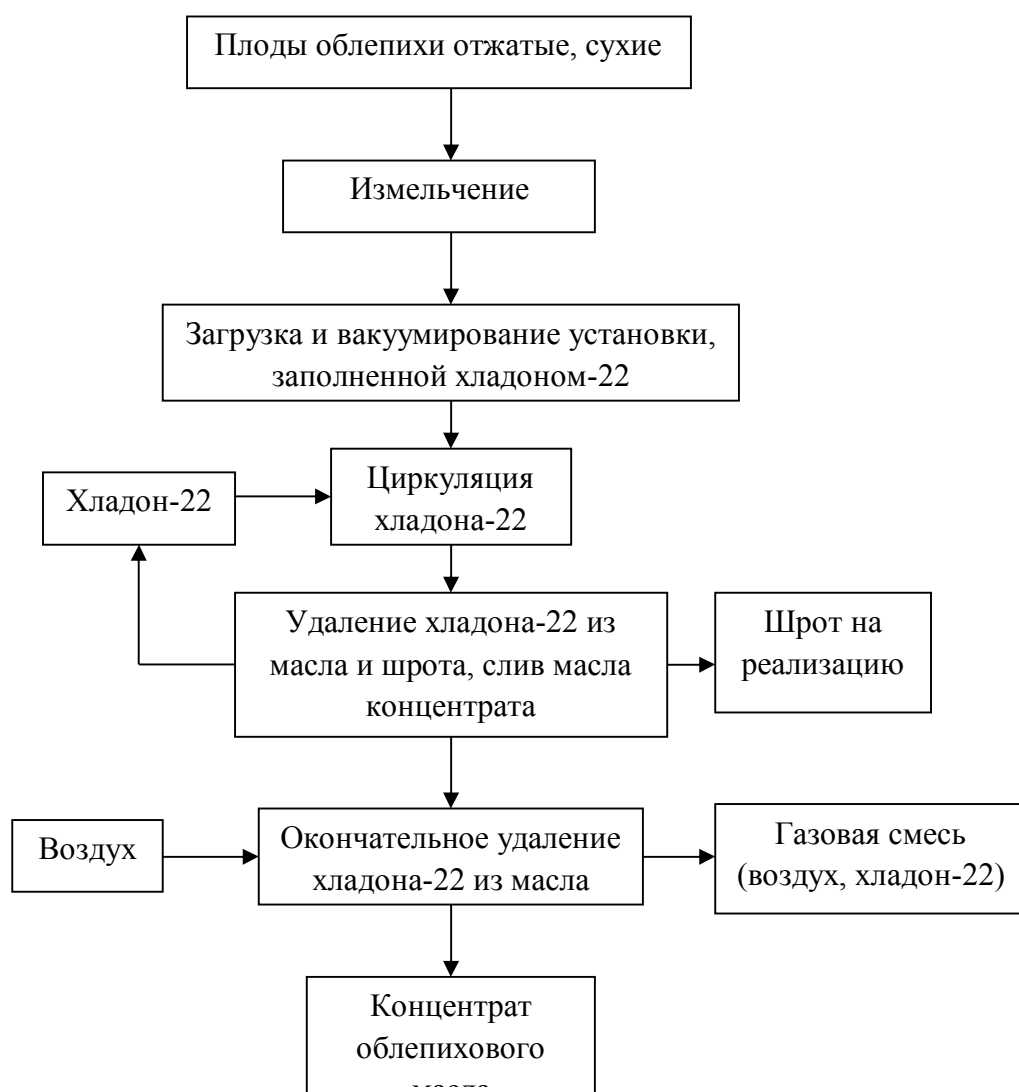


Рисунок 1.1 – Технологическая схема фреонового метода

В качестве экстрагента применяется хладон-R-22(CHClF_2). При нормальных условиях это бесцветный газ со слабым запахом хлороформа, более ядовит, чем

ранее применяемый хладон-R-12, не взрывоопасен и не горюч. По сравнению с R-12, хладагент R-22 хуже растворяется в масле, но легко проникает через неплотности и нейтрален к металлам. При температуре выше 330 °С в присутствии металлов разлагается с выделением токсичных веществ. Из-за разрушающего действия на озоновый слой Земли он подпал под ограничения Монреальского протокола, полностью отказаться от его использования планируется к 2020 году [77, 87].

Процесс экстракции ведут при комнатной температуре, что способствует лучшей сохранности биологически активных веществ. Избыточное давление в ходе экстракции – от $5 \cdot 10^5$ до $7 \cdot 10^5$ Па. Экстракцию масла осуществляют при циркуляции хладона-22 в замкнутом контуре установки с непрерывным изменением агрегатного состояния из жидкого (в экстракторе) в газообразное (в испарителе), с последующим сжижением за счет компрессионирования и охлаждения паров либо за счет глубокого охлаждения. Низкое значение поверхностного натяжения и вязкости хладона-22, а также предварительное вакуумирование сырья способствуют быстрому проникновению растворителя в клетки. Масло-концентрат разбавляют подсолнечным маслом до требуемого содержания каротиноидов [76].

Благодаря своей высокой стоимости облепиховое масло является привлекательным объектом для фальсификации. В настоящее время одним из параметров, по которому определяется подлинность и стоимость облепихового масла, является содержание каротиноидов. Однако исследования показывают, что потребительская ценность и биологическая активность облепихового масла определяется в основном не каротиноидами, а неомыляемыми веществами [150]. Очевидно, что определять наличие и содержание всех биологически активных компонентов облепихового масла ради подтверждения его подлинности – слишком трудоемкая и дорогостоящая задача.

Каждое масло имеет характерный, уникальный для каждого вида масла профиль жирных кислот и триглицеридов. Так как триглицериды являются основной составляющей масла фальсификация триглицеридного или

жирнокислотного состава не имеет смысла. Так что данный критерий может быть использован для идентификации и выявления подделок. Анализ триглицеридного профиля более предпочтителен для характеристики масла, потому что предоставляет информацию о структуре, например, позиции жирной кислоты в триглицериде. Однако полное определение триглицеридного профиля может быть достигнуто только комплексом последовательных процедур, достаточно трудоемких, продолжительных и дорогостоящих. Так что оно крайне редко используется на производстве или для контроля качества [152].

Представляется целесообразным рассмотреть возможность использования жирнокислотного и триглицеридного состава масла в качестве идентификационного критерия при установлении фальсификации.

1.2 Методы определения подлинности облепихового масла на основе анализа триглицеридного состава

Количественный и качественный анализ триацетилглицеридного состава масел является довольно сложной процедурой. Полное разделение триацетилглицеридов практически невозможно вследствие соэлюирования так называемых проблемных триацетилглицеридов (образцов, имеющих различный состав, но близкое время удерживания) [104].

В настоящее время при анализе растительных масел в аккредитованных лабораториях используют метод по ГОСТ 30418-96. Он включает омыление масла, экстракцию жирных кислот, получение метиловых эфиров с последующим определением эфиров методом газовой хроматографии [19]. Кроме того, в научно-исследовательских лабораториях разработаны и апробированы различные физико-химические, физические и биохимические методы анализа как непосредственно триацетилглицеридов, так и жирных кислот, входящих в их состав. Каждый из методов имеет свои достоинства и недостатки.

1.2.1 Хроматографические методы

Газовая хроматография. Согласно требованиям действующей фармакопейной статьи предприятия PN002959/01-301210 подлинность облепихового масла подтверждается спектрофотометрией раствора, используемого для количественного определения содержания каротиноидов, который в области от 430 до 500 нм должен иметь максимумы поглощения при длинах волн (447 ± 3) нм и (470 ± 3) нм и газовой хроматографией метиловых эфиров жирных кислот – миристиновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой, времена удерживания пиков которых в испытуемом растворе должны совпадать с временами удерживания метиловых эфиров жирных кислот на хроматограмме модельной смеси [102].

Метод основан на превращении триацетилглицеридов жирных кислот в метиловые эфиры и газохроматографическом исследовании последних в газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором [19]. Для идентификации метиловых эфиров жирных кислот время их удержания сравнивают с временем удержания индивидуальных очищенных стандартов метиловых эфиров известных жирных кислот. Для лабораторных исследований так же можно использовать вторичные стандарты, приготовленные на основе масел, жирнокислотный состав которых хорошо изучен и описан в литературе. Относительная концентрация каждого из метиловых эфиров жирных кислот может быть определена расчетом отношения площади пика к суммарной площади всех пиков, а абсолютная концентрация – добавлением внутреннего стандарта [121].

По ГОСТ 31665-2012 существует два основных способа получения метиловых эфиров жирных кислот. В первом случае используют реакцию переэтерификации с метанольным раствором метиллата натрия (калия). Для приготовления этого раствора необходимо 6–8 часов. Во втором случае сначала производят омыление триацетилглицеридов масла раствором метиллата натрия в метаноле, затем производят этерификацию метанольным раствором хлористого водорода. Для этого способа также необходима достаточно трудоемкая подготовка реактивов. Кроме того, существует вероятность окисления

полиненасыщенных жирных кислот кислородом воздуха, что в дальнейшем внесет ошибку в результаты анализов [20].

В данном методе используется химическая реакция, выход продуктов которой может быть не стопроцентным. В подавляющем большинстве случаев результат анализа не может быть сопоставлен с заведомо известными данными, следовательно, достоверность получаемых данных не очевидна [39].

Кроме того, такой подход связан с риском ошибочной интерпретации, так как многие масла имеют сходный жирнокислотный состав. Кроме того, на профиль жирных кислот влияют такие факторы как: сорт растения, климат, область и условия произрастания [128].

А.А. Зинченко и коллегами были проведены исследования препарата «Аекол», представляющего собой масляный раствор микробиологического каротина. Формально препарат соответствовал требованиям, предъявляемым к облепиховому маслу: содержание каротиноидов 220 мг%, на хроматограмме присутствует пик, характерный пальмитолеиновой кислоты. Авторы предполагают, что в подсолнечное масло кроме каротина был добавлен жир животного происхождения, так же отличающийся высоким содержанием пальмитолеиновой кислоты [164].

Была предложена модифицированная методика получения метиловых эфиров жирных кислот, исключая окисление ненасыщенных жирных кислот кислородом воздуха. Процесс производили в специальном приборе, представленном на рисунке 1.2. Из исследуемых образцов концентратов облепихового масла получали метиловые эфиры жирных кислот по следующей методике: 50 мг образца помещали в остродонную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 1 мл диэтилового эфира, прибавляли 5 мл метанола и при непрерывном перемешивании 0,25 мл хлористого ацетила. В специально изготовленном приборе проводили переэтерификацию. Прибор состоит из обратного холодильника (Хл. 1), через который проходит стеклянный капилляр. В верхней части холодильника расположен отвод, к которому подсоединен второй холодильник (Хл. 2). Колбу с раствором образца подсоединяли к Хл. 1. Через

капилляр со скоростью 50 мл/мин в течение 3 минут пропускали инертный газ (аргон). Затем скорость подачи аргона уменьшали до (0,5–1,0) мл/мин, колбу помещали в глицериновую баню с температурой 60–62 °С и выдерживали в течение 40 минут. После этого воду из рубашки Хл. 1 удаляли и увеличивали скорость подачи инертного газа до 50 мл/мин и выпаривали раствор до остаточного объема около 0,3 мл. Содержание колбы охлаждали до комнатной температуры, прибавляли 2 мл циклогексана и перемешивали. После отстаивания верхний циклогексановый слой отделяли и пропускали через 0,3 г натрия сульфата безводного. Полученный раствор метиловых эфиров использовали для дальнейшего хроматографирования [46].

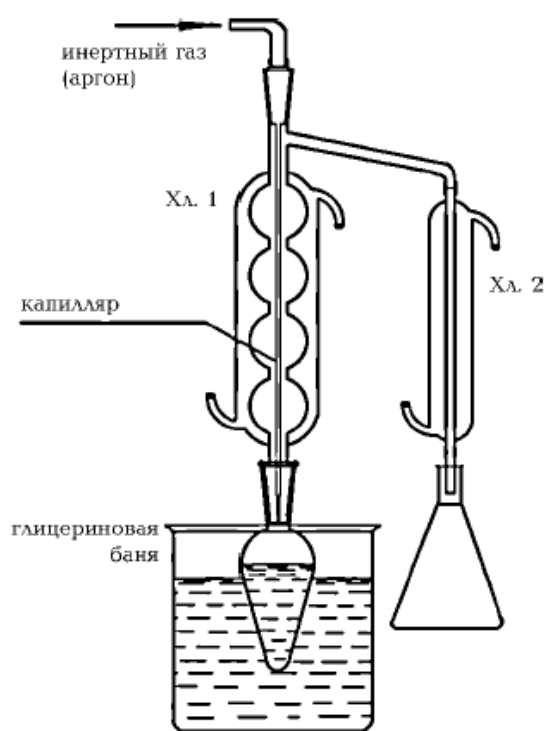


Рисунок 1.2 – Установка для получения метиловых эфиров жирных кислот [46]

В отличие от методик, рекомендованных ГОСТ 31665-2012, реакцию проводят в щадящих условиях, при более низких температурах, не используют сильные кислоты и щелочи. Однако для проведения переэтерификации таким способом требуется достаточно сложное для производственного предприятия аппаратное оформление.

Затруднения при исследовании состава жирных кислот методом ГХ вызваны тем обстоятельством, что последние плохо разделяются на капиллярных колонках с неполярной неподвижной фазой. Для их разделения разработаны специальные полярные капиллярные колонки, использование которых значительно повышает разрешение, чувствительность и точность, а также сокращает время анализа [128]. Однако и тут разделению мешают существенные количественные различия разных кислот в образцах, приводящие к маскировке пиков. Наибольшими возможностями по разделению ненасыщенных жирных кислот обладают углеграфитовые колонки [103].

В литературе также предложено для газохроматографического анализа вместо метиловых эфиров жирных кислот использовать триметилсилилпроизводные, отличающиеся высокой стабильностью и летучестью, либо третбутилсилилпроизводные. По сравнению с метиловыми эфирами силилпроизводные жирных кислот C_6-C_{27} лучше разделяются при газовой хроматографии. Для анализа необходимо меньшее количество масла [182]. Однако для получения силилпроизводных необходимы особые реактивы и катализаторы.

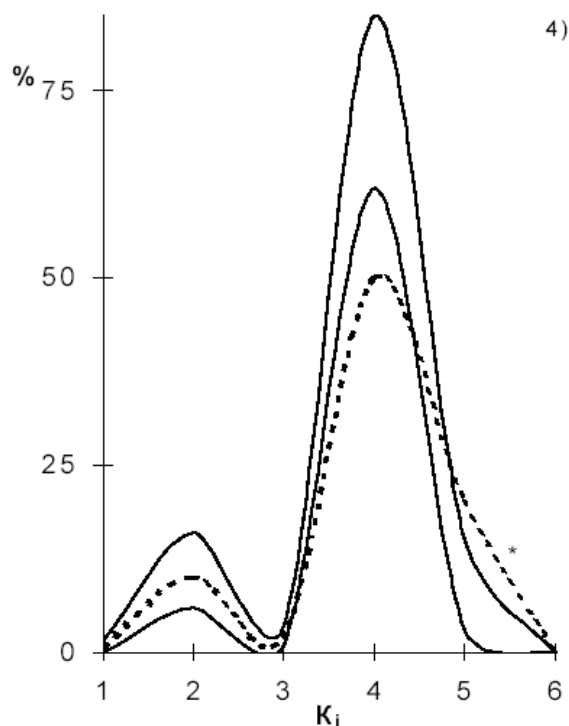
Для исследования трудноразделяемых в условиях ГХ изомеров эфиров карбоновых кислот C_{18} с разной степенью ненасыщенности была использована наиболее широко применяемая колонка с неполярной привитой фазой и режим детектирования по пикам молекулярных ионов [103].

Данные, полученные А.А. Зинченко и коллегами, показывают, что в концентрате облепихового масла концентрация пальмитолеиновой кислоты превосходит концентрацию пальмитиновой, а концентрация вакценовой кислоты превосходит концентрацию олеиновой. Поэтому в качестве критерия подлинности облепихового масла авторы предлагают использовать не просто наличие пиков пальмитолеиновой и вакценовой кислот, а отношение площадей пиков метиловых эфиров пальмитолеиновой кислоты к пальмитиновой и вакценовой к олеиновой. С одной стороны, предложенный критерий позволяет более объективно, по сравнению со стандартом, оценить качество препарата

[164]. С другой стороны, в случае, если содержание одной из анализируемых кислот ничтожно мало, относительный критерий на ее основе находится с очень большой погрешностью [85].

Другой вопрос, который часто встает при хроматографическом методе анализа – интерпретация полученных хроматограмм. Не специалисту бывает довольно сложно быстро оценить полученные результаты и выявить фальсификацию.

Наглядный графический метод выявления фальсификации масел на основании анализа хроматограмм жирнокислотного состава предложен О.Б. Рудаковым. Для рутинных методик качественной идентификации нецелесообразно производить исчерпывающий анализ жирно-кислотного состава масла. В качестве критериев подлинности выбирают несколько основных жирных кислот, информация о которых статистически достоверна и содержание которых значительно отличается для различных видов масел. На основании литературных данных определяется максимально и минимально возможные концентрации жирных кислот, по ним строят графики – линии максимального и минимального трендов (Рисунок 1.3). Содержание тех же жирных кислот определяют в исследуемом образце по стандартной методике (пунктирная линия). Автором построены графики для нескольких видов масла, при этом очевидно, что линии трендов для разных масел существенно отличаются. Образец, представленный на рисунке, является смесью оливкового масла с добавлением 24 % подсолнечного: наглядно видно, что содержание олеиновой и линолевой кислот выходят за допустимые пределы [85].



K_i – критерии оценки: 1 – миристиновая, 2 – пальмитиновая, 3 – стеариновая, 4 – олеиновая, 5 – линолевая, 6 – линоленовая кислоты

Рисунок 1.3 – Линии трендов оливкового масла [85]

Такая интерпретация позволяет даже не специалисту наглядно видеть случаи фальсификации масел, позволяет выявлять даже смесевые масла. Однако если жирнокислотный состав какого-либо вида масла колеблется в широких пределах, метод не будет обладать достаточной степенью чувствительности к фальсификации.

Официальный метод газовой хроматографии имеет существенные недостатки. Не всегда пробоподготовка не затрагивает собственно жирные кислоты, особенно в случае высоко лабильных конъюгированных жирных кислот. Кроме того, метод не учитывает специфичность распределения жирных кислот по радикалам, поэтому не чувствителен к целому ряду фальсификаций [38].

Существуют методы расчета триацетилглицеридного состава на основании данных о жирнокислотном составе. Однако пересчеты возможны на основании определенных теоретических положениях, а не экспериментальных данных. Часто при этом используется предположение о статистическом распределении радикалов кислот в соответствующих положениях триацетилглицеридов. Однако

даже при строго статистическом распределении радикалов, но изменяющемся соотношении жирных кислот, синтезируемых в растениях на различных стадиях его развития, итоговый результат не подчиняется статистическому распределению [104].

Прямой анализ триацилглицеридов с помощью ГХ является достаточно сложной процедурой, так как температуры кипения этих соединений часто близки к их температурам разложения. Существуют данные об успешных экспериментах с использованием H_2 в качестве газа-носителя, а также инъекции с использованием холода на колонке или инжекторами с программируемой температурой. Кроме того, необходимы особые условия хроматографирования. Идентификацию хроматограмм проводят на основании стандартов или по масс-спектрам. Стандарты с одинаковыми жирными кислотами доступны, существует ограниченное число стандартов с различными жирными кислотами в молекуле триацилглицерида. Однако данные о большинстве из них отсутствуют в библиотеке масс-спектров [182].

Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ). Метод ОФ ВЭЖХ является достойной альтернативой, имеющей целый ряд преимуществ перед методом определения жирнокислотного состава по ГОСТ 30418-96. Прежде всего, в методе нет особой пробоподготовки: перед вводом в хроматограф достаточно просто растворить исследуемое масло в элюенте, т.е. нет стадий, которые могли бы внести изменения в состав образца. В методе ОФ ВЭЖХ также необходимо использование стандартов: это могут быть как первичные стандарты – чистые триацетилглицериды или их смесь, так и вторичные – масла, с известным триацетилглицеридным составом [39].

ОФ ВЭЖХ может быть использована для разделения энантиомеров триглицеридов (позиционных изомеров). Однако это не простая задача. Для ее решения применяют либо ОФВЭЖХ с сорбентами с длинными алкильными группами (например, C_{30}), либо ион-серебряную ВЭЖХ. Оба метода характеризуются довольно большими временами анализа, а ион-серебряная ВЭЖХ – также низкой воспроизводимостью разделений при смене колонки [74].

Для оценки состава триацилглицеридов можно воспользоваться определением эквивалентных углеродных чисел (ECN). ECN— это количество атомов углерода гипотетического насыщенного триацетилглицерида, который элюируется одновременно с изучаемым ненасыщенным триацетилглицеридом. В ряде случаев оценка совпадает с результатами, полученными другими методами [145]. Но такой подход не отличается высокой информативностью, поскольку величины эквивалентных углеродных чисел зависят от состава подвижной фазы, причем эта зависимость более выражена для триацетилглицеридов с меньшим значением ECN [100].

Учеными Белгородского государственного университета для анализа хроматографического поведения неомыленных растительных масел использовалась более удобная инкрементная модель [37]. Инкрементный подход построен на гипотезе аддитивности вкладов функциональных групп в суммарное удерживание для логарифмов факторов удерживания [100]. Инкрементом называется разность логарифмов факторов удерживания двух триацетилглицеридов, состав которых различается только одним радикалом кислоты. В.И. Дейнекой и коллегами были найдены закономерности изменения времен удерживания триацетилглицеридов при замене одних радикалов ненасыщенных кислот другими [36].

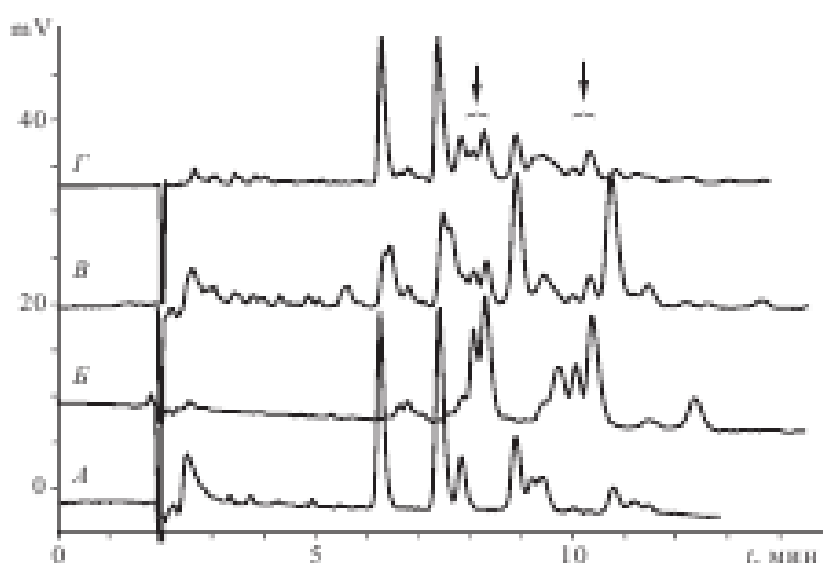
При разделении липидов в ОФ ВЭЖХ с неполярным растворителем трудностью является то, что для идентификации пиков приходится использовать неселективные детекторы, в частности, испарительный детектор светорассеяния. Такой детектор не обладает линейностью отклика, и с целью устранения этого недостатка используются добавки в образец холестерина, образующего молекулярные ассоциаты с триацетилглицеридами, а такженитрата серебра для повышения чувствительности анализа [103].

В.И. Дейнека и коллеги применяли хроматографическую систему с рефрактометрическим детектированием. Использование расчетных значений коэффициентов преломления различных триацетилглицеридов позволяет получить градуировочную зависимость, общую для масел с различной степенью

насыщения, что является обоснование метода прямого исследования триацетилглицеридного состава [104].

Характерной особенностью масла мякоти плодов облепихи является присутствие в составе триацетилглицеридов значительных количеств пальмитолеиновой кислоты. На основании ранее сделанных расчетов [36] сделано предположение, что триацетилглицериды, образованные пальмитолеиновой кислотой, должны элюироваться позже триглицеридов, в которых пальмитолеиновая кислота заменена на линолевую. На хроматограмме исследуемого облепихового масла (рисунок 1.4) рассматривают группу проблемных пиков (не разделяемых в условиях методики) между Л₂П и ЛО₂ наличие таких пиков свидетельствует о присутствии масла мякоти облепихи в образце. Для увеличения степени разделения можно использовать элюенты с большей объемной долей ацетонитрила или две последовательные колонки, однако при этом теряется экспрессность метода.

Эффективность использованного в работе подхода для отнесения пиков была подтверждена прямым ВЭЖХ исследованием с использованием масс-спектрометрического детектирования в режиме химической ионизации при атмосферном давлении [100].



А – подсолнечное; Б – концентрат масла мякоти плодов облепихи; В – «Облепиховое масло из плодов и листьев», Катунь Олеум; Г – «Облепиховое

масло», ЗАО «Алтайвитамины»; стрелкой со скобкой обозначены диагностические пики на хроматограмме смеси облепихового масла с маслом экстрагентом

Рисунок 1.4 – Хроматограммы, полученные методом ОФ ВЭЖХ [40]

В.И. Дейнека и коллеги предлагают так же решить проблему сопоставления данных, полученных в различных хроматографических системах, вызванную неэквивалентностью свойств стационарных фаз не только различных производителей, но и фаз одной торговой марки различных партий. Применение технологии метода относительного анализа удерживания позволяет в ряде случаев проводить прямое сопоставление экспериментальных данных. В работе установлено, что карта разделения триацетилглицеридов, как малополярных веществ, практически не зависит от типа использованной стационарной фазы, что открывает возможность использования данных, полученных с использованием труднодоступного оборудования. Кроме того, показана возможность оценки взаимодействий сорбата с компонентами подвижной фазы при сопоставлении относительного удерживания сорбатов в различных элюентных системах. Наконец, предложен метод математической обработки, позволяющий оценивать число двойных связей в жирнокислотных радикалах триацетилглицеридов [37].

К достоинствам данного метода стоит отнести его экспрессность, а так же, в отличие от общепринятого метода, отсутствие каких-либо воздействий на образец кроме растворения. Многолетние исследования показали, что хроматографический профиль масел (число пиков, их относительное расположение на хроматограмме и соотношение высот или площадей) лишь незначительно изменяется при изменении хроматографических условий. Это позволяет ввести в практику исследований метод «отпечатков пальцев» в варианте ОФ ВЭЖХ. При этом показано, что инкрементный подход позволяет рассчитывать триацетилглицеридный состав масел без использования дорогостоящего оборудования [38].

Однако данный метод можно отнести к качественным анализам, позволяющим выявить присутствие облепихового масла в образце. Сравнение различных смесей облепихового и подсолнечного масла и однозначное выявление наличия других масел в концентрате облепихового масла не представляется возможным.

Сверхкритическая флюидная хроматография. Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) – вид элюентной хроматографии, в котором в качестве основного компонента подвижной фазы используются вещества в сверхкритическом или окологкритическом состоянии. Развитие этого метода приходится на 1990-е годы как более экологически выгодной и экономически приемлемой альтернативы ВЭЖХ [88].

Сверхкритические флюиды имеют плотность и растворяющую способность, аналогичную жидкостям, но более низкую вязкость и лучшие диффузионные свойства. Соответственно, при использовании в качестве подвижной фазы в хроматографии они обладают всеми достоинствами газа-носителя как в ГХ и эффективного растворителя как в ВЭЖХ [185].

Основными преимуществами СФХ являются:

- быстрота анализа;
- оптимальное значение линейной скорости потока в СФХ выше, чем в ВЭЖХ;
- спад давления на колонке меньше, чем в ВЭЖХ;
- возможность использования колонок большей длины;
- возможность использовать более низкие, чем в ГХ температуры без потери эффективности;
- возможность разделения веществ с большими молекулярными массами, чем в ГХ [88].

В качестве основного компонента подвижной фазы в СФХ часто используется сверхкритический диоксид углерода, что дает дополнительные преимущества – токсическую, экологическую и пожарную безопасность [63].

P. Manninen et al. использовали сверхкритическую флюидную хроматографию для разделения триглицеридов пищевых масел и жиров. Несмотря на то, что пики некоторых триглицеридов накладывались друг на друга, удалось эффективно разделить триглицериды масла мякоти облепихи по степени ненасыщенности и числу ацетильных атомов углерода [136].

О.И. Покровский и коллеги предлагают использовать сверхкритическую флюидную хроматографию (СФХ) для раздела позиционных изомеров триглицеридов. За счет сочетания газоподобных коэффициентов диффузии в сверхкритических флюидах и низкой плотности разделение необходимой селективности разделений достигается за меньшие времена по сравнению с ВЭЖХ без потери эффективности [74], причем стоимость процедуры значительно ниже, чем при использовании ВЭЖХ для разделения энантиомеров [75].

Основные недостатки – сложность использования оборудования высокого давления в производственной практике, более высокая стоимость оборудования и вопросы природоохранных организаций по поводу возможного вреда углекислого газа, недостаточная информированность и отсутствие опыта применения данного метода [63].

1.2.2 Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия – один из наиболее мощных и информативных методов исследования структуры органических соединений и химического анализа сложных веществ и их смесей. Это прямой метод, позволяющий непосредственно определять молекулярную массу, элементный состав молекул и их фрагментов, их связь между собой и взаимное расположение. Возможен многокомпонентный анализ сложных смесей органических веществ, в том числе ультраследовой анализ (10^{-9} – 10^{-15} г) [48].

Масс-спектр предоставляет информацию об уникальной комбинации заряженных фрагментов (ионов), образующихся при диссоциации ранее ионизированной молекулы. Применимость и аналитические качества масс-

спектрометрии в значительной мере определяются возможностью ее комбинации с другими методами, такими как ГХ и ВЭЖХ. Комбинированный метод хромато-масс-спектрометрии предоставляет информацию о (1) времени удерживания, (2) площади хроматографических пиков и (3) масс-спектры каждого компонента в смеси, полученного его ионизацией с электронным ударом при 70 эВ. Величина 70 эВ была создана как стандарт для получения масс-спектров (именно такие масс-спектры являются частью библиотеки спектров, комплектуемой масс-спектрометр), потому, что для большинства органических соединений самая высокая эффективность ионизации и воспроизводимость достигаются при бомбардировке электронами этой энергии. Во время столкновения с электронами, энергия передается на молекулы, ионизируя их, формируются молекулярные ионы M^+ , и происходит дробление этих возбужденных ионов. Хромато-масс-спектрометрия является наиболее широко используемой тандемной комбинацией инструментальных методов аналитической химии, применяемых для исследований в различных сферах [184].

Существует две основные стратегии при идентификации соединений с помощью хромато-масс-спектрометрии. Первая заключается в использовании стандартных веществ (сертифицированных эталонных материалов) [184], или же структурные фрагменты молекулы определяются с использованием спектро-структурных корреляций [48]. Вторая включает в себя определение индексов удерживания, в сочетании с экспериментальными масс-спектрами (при ионизации электронным ударом 70 эВ) и их сравнение с базами данных индексов удерживания, полученных в колонках ортогональной полярности (полярной и неполярной) и стандартных масс-спектров (при ионизации электронным ударом 70 эВ). Если несколько компонентов сложной смеси имеют аналогичные времена удерживания или их масс-спектры кажутся одинаковыми или незначительно отличающимися (встречается достаточно редко) обязательно использовать сертифицированные стандартные вещества [184].

В настоящее время метод хромато-масс-спектрометрии является одним из самых достоверных методов исследования триглицеридного состава,

позволяющим определить жирнокислотный состав, в работах по облепиховому маслу зачастую используется именно этот метод [161, 80, 177, 42].

Большое значение для хромато-масс-спектрометрического анализа имеет математическая обработка полученных данных, позволяющая извлекать дополнительную информацию. Например, для оливкового масла разработана математическая модель, позволяющая на основании результатов хромато-масс-спектрометрии жирнокислотного профиля выявить факты фальсификации оливкового масла, и даже определить вид и содержание постороннего масла [128].

Недостатком данного метода является достаточно высокая стоимость оборудования и для производственного предприятия встает вопрос о целесообразности его приобретения ради простого контроля качества сырья и продукции.

1.2.3 Спектрометрия ядерного магнитного резонанса

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия) – физический метод, основанный на регистрации индуцированных радиочастотным полем переходов между ядерными магнитными энергетическими уровнями молекул вещества, помещенного в постоянное магнитное поле. Переходы между ядерными магнитными уровнями возможны для ядер, обладающих магнитным моментом, т. е. имеющих спиновое квантовое число l , не равное нулю. Такими свойствами обладают ядра ^1H , ^{13}C , ^{31}P , у которых $l = 1/2$, и др. Совокупность сигналов переходов между энергетическими уровнями ядер составляет спектр ЯМР, который является специфичным для каждого вещества [29].

Различие ядерно-магнитных релаксационных характеристик протонов липидов в маслах, определяется отличиями физико-химических свойств и молекулярной подвижности молекул триацетилглицеридов различных структурных областей. Среди хаотически расположенных индивидуальных молекул триацетилглицеридов в масле непрерывно возникают и разрушаются небольшие скопления этих молекул, структура которых аналогична структуре

кристаллической решетки – это так называемые ассоциаты молекул различной степени. В отличие от кристаллов, в таких ассоциатах молекул правильная периодичность их расположения распространяется на небольшие расстояния, порядка 1–2 нм [78].

Ассоциаты молекул триацетилглицеридов образуются тем в меньшей степени, чем выше температура исследуемых образцов, поскольку усиливающееся этим тепловое движение индивидуальных молекул подавляет тенденцию к образованию кристаллической решетки. При одинаковой температуре способность различных триацетилглицеридов образовывать ассоциаты молекул различна, и определяется их жирнокислотным составом. Таким образом, соотношение амплитуд сигналов ЯМР и их времен релаксации определяется жирнокислотным составом масла, и являются характеристичными [78, 7].

К преимуществам данного метода следует отнести возможность получения информации о веществе по сравнительно небольшой навеске (0,1–0,2 г) без деструкции образца. В отечественной и зарубежной литературе описано использование метода ЯМР-спектроскопии для изучения и характеристики жирных растительных масел, метод дает сопоставимые с официальным методом ГХ результаты [78, 9, 45, 101, 89].

Наиболее информативным является ^1H ЯМР-спектр. В аналитических целях в ^1H ЯМР-спектрах используются интегральные интенсивности сигналов олефиновых протонов ненасыщенных жирных кислот (в области 5,1–5,5 м.д.), протонов метиленовых групп глицеринового остатка (в области 4,0–4,4 м.д.), метиленовых групп, находящихся между двойными связями (в области 2,6–2,9 м.д.), метиленовых групп при карбонильных группах жирных кислот (в области 2,2–2,4 м.д.), метиленовых групп, находящихся в α -положении к двойной связи (в области 1,9–2,2 м.д.). Протоны концевых метильных групп жирных кислот, за исключением CH_3 -группы в линоленовой кислоте, дают сигнал при 0,8–1,0 м.д. Протоны метильной группы линоленовой кислоты проявляются в виде триплета при 0,9–1,1 м.д. [7]. Поэтому содержание остатков линоленовой кислоты можно определить непосредственно из спектра. Содержание остальных ненасыщенных

жирных кислот необходимо рассчитывать [109]. Существуют исследования, показывающие возможность определения чистоты и выявления фальсификации оливкового масла на основании ^1H ЯМР-спектра [130].

Спектры ЯМР ^{13}C могут дать полезную информацию о распределении жирных кислот в триацетилглицеридах. Этот метод в комбинации с многофакторным статистическим анализом позволяет определить положение кислот в триацетилглицеридах [183, 160].

Метод ^{31}P ЯМР-спектроскопии может быть использован для обнаружения и количественного определения минорных соединений моно- и диацилглицеринов, а так же для определения содержания свободных жирных кислот и влажности. Этот аналитический метод требует получения производных с использованием фосфорсодержащего реагента (2-хлор-4,4,5,5- тетраметилдиоксофосфолана) и использование ^{31}P химических сдвигов фосфорилированных соединений для идентификации лабильных центров. Содержание свободных жирных кислот, установленное этим методом, хорошо коррелирует с данными, получаемыми стандартным методом титрования [144, 119].

К достоинствам данного метода следует отнести отсутствие химических превращений исследуемого образца масла, исключения применения токсичных и дорогостоящих реактивов, а также энерго- и трудозатрат [101, 173].

Однако к недостаткам метода следует отнести меньшую чувствительность. Как показывают данные, полученные Е.Д. Скаковским и коллегами, большинство жирных кислот, содержание которых находится в пределах до 1,5%, методом ЯМР-спектроскопии не регистрируется [89]. Для повышения чувствительности метода и усреднения шумов сигнал нужно накапливать долгое время. Кроме того, это один из самых дорогостоящих методов анализа, что имеет большое значение для производственного предприятия.

1.2.4 Метод инфракрасной спектроскопии

Свет проходит через пространство в виде электромагнитных волн различной длины волны. Весь диапазон длин волн представляет собой электромагнитный спектр. Спектроскопия изучает взаимодействие между светом и материей с целью получения информации о химическом составе вещества. Область поглощения полиненасыщенных жирных кислот лежит в УФ-части спектра. Наличие полосы поглощения при 230–270 нм указывает на наличие сопряженных диенов и триенов [181]. Триглицериды и жирные кислоты так же поглощают в УФ-области при максимуме 210–226 нм [86]. Ближний ИК-спектр может дать полезную информацию о молекулярной структуре жиров, благодаря наличию обертонов и комбинаций колебательных мод С-Н и О-Н-связей. На практике весь спектр поглощения в диапазоне УФ–ИК можно считать своего рода оптической подписью или уникальным отпечатком пальца масла [181]. Данный метод анализа является неразрушающим, характеризуется простотой и быстротой получения результата, отсутствием пробоподготовки и может быть внедрен на предприятии благодаря наличию компактных и относительно не дорогих анализаторов.

Химическая информация, предоставленная спектром поглощения, содержится в положениях и интенсивностях полос поглощения. На основании положения полос делают вывод о структуре соединения, а на основании интенсивности оценивают содержание компонента. Так как масло содержит многочисленные соединения, спектр поглощения дает широкие пики в результате наложения перекрывающихся полос. Для качественного и количественного анализа, полученный спектр должен быть откалиброван на основании эталонных аналитических данных [181].

Ранее инфракрасная спектроскопия, особенно в ближней области, считалась малополезной из-за высокого и трудноустраняемого шума (погрешностей), обусловленного интенсивным поглощением воды и эффектом рассеяния в спектрах отражения. Однако в последнее время появилось множество работ по хемометрике, посвященных методам анализа спектроскопических данных, построению для них градуировочных моделей с помощью метода главных

компонент и метода проекций на латентные структуры. Хемометрика – химическая дисциплина, применяющая математические, статистические и другие методы, основанные на формальной логике для извлечения наиболее важной информации при анализе экспериментальных данных [174].

Спектроскопические методы анализа в комбинации с хемометрическими методами могут служить хорошей альтернативой хроматографическим исследованиям при необходимости контролировать качество и подлинность масла на производстве. В работе Galtier et al использовался ИК-спектроскоп с преобразователем Фурье, на основании полученных ИК-спектров хемометрическими методами (методом регрессии частичных наименьших квадратов) определяли содержание жирных кислот и триацетилглицеридов, полученные результаты хорошо коррелировали с данными полученными классическими методами газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографией. К преимуществам комбинации ИК-спектроскопии и хемометрических методов следует отнести быстроту, надежность и не высокую стоимость эксперимента. Однако, по мнению авторов, при анализе нетипичных образцов данная методика не может заменить хроматографию [125].

В работе M.I.Sánchez-Rodríguez et al описан новый хемометрический подход для получения количественной информации на основании инфракрасных спектров малой и средней длин волн. После снятия ИК-спектров, полученные матрицы данных обрабатывались методами регрессионного анализа. Была предложена хемометрическая модель, определены коэффициенты линейных уравнений, проведена валидация данной модели. В общем случае, независимо от количества факторов, в регрессионной модели, зона среднего ИК-спектра обеспечивает более точную оценку содержания насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот, в то время как при оценке содержания мононенасыщенных жирных кислот более точную информацию получают по данным ближнего ИК-спектра [148].

R.M. Maggio et al разработали хемометрическую модель, позволяющую качественно и количественно идентифицировать различные растительные масла –

рапсовое, оливковое, подсолнечное. В работе авторов показано, как на основании ИК-спектров выявлять в оливковом масле присутствие примесей других масел [135].

Недостатком данного метода является большая трудоемкость на этапе внедрения данного метода для анализа определенного вида образцов. Дело в том, что каждая хемометрическая модель нуждается в полноценной проверке. Если при анализе такой многокомпонентной смеси как масло необходимо получить информацию о содержании индивидуальных жирных кислот или триацетилглицеридов, потребуется многомодальная градуировка, математический аппарат которой достаточно сложен. В литературе встречается достаточное количество публикаций по анализу различных хемометрических моделей для обработки данных ИК-спектров оливкового масла. Предложенные методы позволяют определять не только жирнокислотный состав масел, но и различать масла, полученные из оливок одного сорта, произрастающих в разных регионах [181, 115, 124]. Однако нами не было встречено публикаций по применению хемометрических методов анализа ИК-спектров масла облепихи.

1.2.5 Метод дифференциальной сканирующей колориметрии

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) дает информацию о температурах и теплотах фазовых переходов [172]. Анализ заключается в регистрации тепловых эффектов, сопровождающих превращения веществ в условиях программирования температуры, он позволяет фиксировать так называемые кривые (термограммы) нагревания (или охлаждения) исследуемого образца, т.е. изменение температуры последнего со временем. В случае любого фазового превращения первого рода в веществе (или смеси веществ) происходит выделение или поглощение теплоты и на кривой (термограмме) появляются пики [51, 54].

Достоинствами метода являются скорость, небольшие количества вещества для анализа, отсутствие пробоподготовки и токсичных реактивов и растворителей

[120, 10, 129]. В литературе приводится множество данных о термическом поведении различных масел [152, 120, 129, 178]. Однако часто бывает трудно сравнивать данные из различных источников, из-за отсутствия единых аналитических методов, используемых в качественном или количественном анализе.

Сложность тепловых профилей масел обусловлена большим разнообразием триглицеридов, входящих в их состав, так что масла не имеют конкретных температур плавления и кристаллизации [152]. Кроме того для триглицеридов характерно явление полиморфизма, выражающееся в существовании нескольких кристаллических фаз, наличие которых зависит от жирнокислотного состава, метода кристаллизации и чистоты образца. В связи с этим часто возникают сложности с интерпретацией ДСК-кривых плавления. С другой стороны, ДСК-кривые кристаллизации зависят только от химического состава образца и, следовательно, является более воспроизводимым [152, 10, 15, 16].

Простой термический анализ имеет невысокую чувствительность. При малом удельном тепловом эффекте на единицу массы или при небольшом количестве превращающейся фазы перегибы на термических кривых, соответствующих превращению, становятся едва заметными, и такие превращения могут быть не обнаружены [172]. Сложности, возникающие из-за наложения пиков, могут быть разрешены экспериментально (с помощью модулированной дифференциальной сканирующей калориметрии с непостоянной скоростью нагрева) или с помощью соответствующего программного обеспечения [120]. Метод термомеханического анализа (ТМА) позволяет определить температуру размягчения (начала плавления) твердого образца, что позволит выделить эндоэффект плавления среди эндоэффектов фазовых переходов глицеридов [10].

Наличие пика на кривой ДСК свидетельствует о прохождении фазового превращения, однако природу этого превращения невозможно определить, основываясь исключительно на данных калориметрии. Интерпретация данных ДСК в общем случае может представлять собой достаточно сложную задачу,

особенно в случае присутствия на кривой нескольких термических аномалий, для решения которой требуется привлечение дополнительных методов: рентгенодифракционных, ИК-спектроскопии, а также вкупе с разнообразными методами химического анализа [172].

M. Fahimdanesh et al показали возможность выявления фальсификации кунжутного масла добавлением 5–15 % кукурузного или подсолнечного масла с помощью ДСК-анализа по изменению температуры плавления [123].

По мнению Л.А. Буданиной и коллег, колебания жирнокислотного состава и взаимодействие компонентов различных масел существенно ограничивают возможности применения методов термического анализа для количественного анализа состава смесей масел [6].

Хорошие результаты были получены при математической обработке оцифрованных кривых ДСК. В работе L. Indriyani et al показано, что хемометрические модели, полученные на основе кривых ДСК методом регрессии частных наименьших квадратов и методом поэтапной множественной линейной регрессии, позволяют выявлять фальсификацию масла авокадо [179].

В работе L. Cerretani et al хемометрический подход, основанный на методологии частных наименьших квадратов, был применен к данным, полученным методом ДСК для 63 образцов различных растительных масел. Этот подход позволил с достаточной степенью достоверности определить общее содержание насыщенных, моно- и полиненасыщенных жирных кислот в образцах масла, а также доли пальмитиновой, стеариновой, олеиновой и линолевой кислот [117].

Таким образом, простой, экологичный, не дорогой и быстрый метод дифференциальной сканирующей калориметрии в комбинации с хемометрическими методами может давать ценную количественную информацию о жирнокислотном составе растительного масла, позволяет выявлять случаи фальсификации. До сих пор нами не было найдено в литературе данных о применении метода ДСК к анализу облепихового масла.

1.2.6 Метод ферментативного гидролиза

Кроме определения состава триацетилглицеридов, интерес представляет определение положения жирных кислот в молекуле триацетилглицерида. Так как различные изомеры могут обладать разной биологической активностью, практическое значение определение положения жирной кислоты имеет для масел, используемых в медицине или в качестве БАД.

Экспериментальные данные показывают, что распределение жирных кислот в различных положениях молекулы триглицерида не является случайным [160].

На первом этапе необходимо подобрать эффективный метод разделения позиционных изомеров. Разделение позиционных изомеров и в частности, энантиомеров триглицеридов – непростая хроматографическая задача. Для ее решения применяют либо ОФВЭЖХ с сорбентами с длинными алкильными группами (например, C_{30}), либо ион-серебряную ВЭЖХ. Оба метода характеризуются довольно большими временами анализа, а ион-серебряная ВЭЖХ – также низкой воспроизводимостью разделений при смене колонки.

Как альтернативный метод разделения О.И. Покровский и коллеги предлагают использовать сверхкритическую флюидную хроматографию (СФХ). За счет сочетания газоподобных коэффициентов диффузии в сверхкритических флюидах и низкой плотности разделение необходимой селективности разделений достигается за меньшие времена по сравнению с ВЭЖХ без потери эффективности. Авторами были использованы неполярные сорбенты – алкильные и графитовые [74].

Относительно простым способом определения жирной кислоты во втором положении является метод ферментативного гидролиза. Исследуемый образец триацетилглицерида обрабатывают панкреатической липазой в соответствующем буферном растворе (рисунок 1.5). Процесс проводят при температуре 40 °С в течение нескольких минут. Происходит гидролиз по связям в первом и третьем положении. Реакцию останавливают добавлением кислоты. Липидные компоненты экстрагируют, а оставшийся 2-моноацетилглицерид отделяют

тонкослойной хроматографией, переэтерифицируют для последующего определения жирной кислоты газовой хроматографией [176].

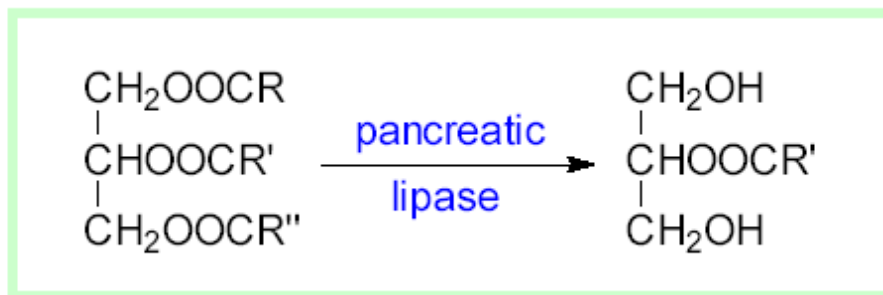


Рисунок 1.5 – Схема метода определения жирной кислоты во втором положении триацилглицерида

В настоящее время неизвестны ферменты, которые могли бы специфично катализировать гидролиз в первом или третьем положении триацетилглицеридов. Однако разработан косвенный метод определения (рисунок 1.6). В общем случае в присутствии неселективного реактива Гриньяра проводят частичный гидролиз триацетилглицеридов, в результате получается эквимольная смесь 1,2-диацилглицерида и 2,3-диацилглицерида, которую сразу отделяют от реакционной среды тонкослойной хроматографией. Из диглицеридов синтезируют фосфолипидные производные, которые, в свою очередь, обрабатывают фосфолипазой змеиного яда, которая избирательно катализирует реакцию только с «природными» 1,2-диглицеридами. Таким образом, можно определить кислоту в первом положении. Жирная кислота в третьем положении определяется косвенным вычислением. В связи с этим возможны значительные ошибки при определении кислот, концентрация которых мала [176, 1].

Очевидно, что метод является настолько трудоемким (общая длительность анализа 20 часов) [1], что его целесообразно использовать для научных исследований, но не для контроля качества масла на производстве.

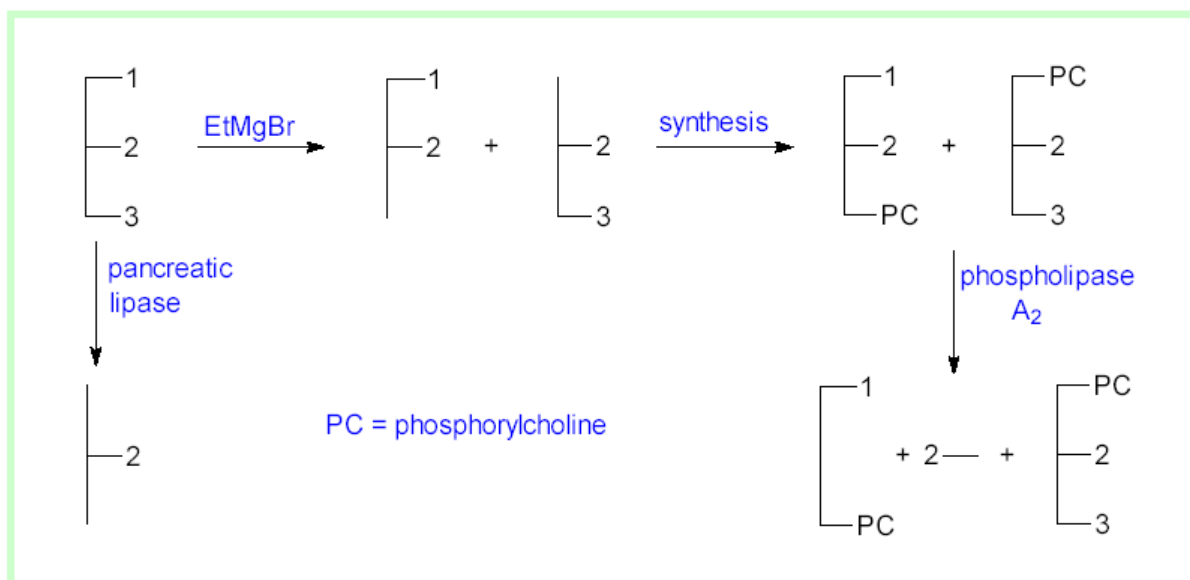


Рисунок 1.6 – Схема метода определения жирной кислоты в первом положении триацилглицерида

Опыты V.D. Tsydendambaev et al показали, что для некоторых триглицеридов масла семян облепихи (пальмитодиолеин и дилинолеолинолен и олеодилинолен), данные полученные методом ферментативного гидролиза и хроматографией отличаются в разы. Для остальных триглицеридов различия несущественны [155].

Применимость индивидуальных свойств и показателей состава масла как идентификационных критериев при установлении фальсификации возможна только тогда, когда этот показатель существенно отличается от аналогичного показателя в других маслах. При этом следует учитывать наличие определенных диапазонов варьирования показателя, заданного с определенной вероятностью. Различие в жирно-кислотном составе одного и того же вида масла может быть обусловлено климатическими факторами, особенностями возделывания, сортом и т.д. [85, 17]. Ниже приведены имеющиеся литературные данные о жирнокислотном и триглицеридном составе облепихового масла.

1.3. Анализ данных по жирнокислотному и триглицеридному составу облепихового масла

Особенностью облепихи является огромное биологическое разнообразие. Выделяют до 15 подвидов. Чаще всего виды и подвиды выделяют по географическому признаку. Однако не все исследователи согласны с тем, что морфологические и биохимические отличия растений обусловлены генетическими особенностями, а не природно-климатическими условиями [150]. Возможно это связано с использованием метилирования жирных кислот для анализа состава образцов.

Жирнокислотный состав липидов облепихи исследуется с 1929 года [116]. В литературе приводятся данные о составе масел облепихи различных сортов, выращенных в различных климатических условиях, различных частей растения.

Разделение на масло семян и масло мякоти вызвано значительными отличиями в содержании биологически активных веществ: каротиноиды в основном содержатся в масле мякоти, содержание витамина Е в масле семян в пять раз ниже, чем в масле, полученном из мякоти после удаления сока. Оба масла имеют различный жирнокислотный состав. Масло семян в основном содержит ненасыщенные жирные кислоты (до 73 % или более) - линолевую или линоленовую. Масло мякоти содержит значительное количество насыщенных жирных кислот, в основном пальмитиновую кислоту, и большое количество пальмитолеиновой, что необычно для растительных масел. В масле мякоти преобладают C_{16} -жирные кислоты, а в масле семян C_{18} [180, 177]. Жирнокислотный состав масел в значительной степени зависит от условий выращивания. Например, масло облепихи, выращиваемой на Кавказе, отличается высоким содержанием $C_{18:1}$ кислоты и до 55 % пальмитолеиновой кислоты, что не характерно для растений [116]. Высокое содержание пальмитолеиновой кислоты (46,42 %) обнаружено так же и в масле мякоти *H. Rhamnoides ssp. turkestanica*, произрастающей в Индийских Гималаях [151]. В масле мякоти кавказской облепихи, произрастающей в районе озера Севан, обнаружено

необычно высокое содержание пентадекановой кислоты – 31 %, обычно вообще не выявляемой [132]. Жирнокислотный состав масла мякоти облепихи приведен в таблице 1.1, масла семян облепихи – в таблице 1.2.

Таблица 1.1 – Жирнокислотный состав масла мякоти облепихи

Жирная кислота	<i>H. Rhamnoides subsp. mongolica</i>		<i>H. Rhamnoides subsp. sinensis</i>				<i>H. Rhamnoides subsp. rhamnoides</i>	<i>H. Rhamnoides subsp. carpatica</i>	<i>H. Rhamnoides ssp. turkestanica</i>
	[153] разные сорта	[161]	[131]	[126]	[161]	[147]	[161]	[177] разные сорта	[151]
C14:0 Миристиновая	0,17–0,64	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	0,23–0,59	0,23
C16:0 Пальмитиновая	33,66–39,65	34,6	27,4	32,1–32,2	27,1	29,7	23,7	23,17–39,22	27,6
C16:1 n-7 Пальмитолеиновая	31,41–38,51	34,6	21,9	26,2–26,8	24,6	32,8	26,8	19,53–26,7	46,42
C16:2 n-9, 6 или 12 Гексадекандиеновая	0,47–1,01	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	0,01–0,16	н/д
C18:0 Стеариновая	0,64–1,09	1,1	1,5	1,2–1,4	1,2	1,2	1,0	0,61–2,53	0,7
C18:1 n-9 Олеиновая	4,26–8,2	4,3	20,2	18,2–19,2	17,4	32,8	17,2	20,81–32,76*	4,0
C18:1 n-7 цис-вакценовая	6,66–9,79	6,7	6,2	н/д	6,7	н/д	7,7	5,34–6,85	н/д
C18:2 n-6 Линолевая	6,69–14,11	14,3	13,2	6,6–6,9	14,1	2,8	14,6	2,25–4,57	9,3
C18:3 n-3 Линоленовая	0,52–0,93	4,4	9,7	2,0–2,6	9,0	1,3	8,9	0,54–3,14	0,7
C20:0 Арахидиновая	0,13–0,19	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	0,07–0,24	0,15
C20:1 n-9 Эйкозеновая	0,04–0,06	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	До 0,2	0,02
н/д – нет данных									
* – для сорта <i>Serpenta</i> содержание пальмитолеиновой кислоты 11,05 %, олеиновой кислоты – 53,08 %									

Таблица 1.2 – Жирнокислотный состав масла семян облепихи

Жирная кислота	<i>H. Rhamnoides subsp. mongolica</i>		<i>H. Rhamnoides subsp. sinensis</i>				<i>H. Rhamnoides subsp. rhamnoides</i>	<i>H. Rhamnoides subsp. carpatica</i>	Вид не указан, сорт Новость Алтая (Дагестан)	Вид и сорт не указан, (Бурятия)	<i>H. Rhamnoides ssp. turkestanica</i>
	[131]	[161]	[131]	[126]	[161]	[147]	[161]	[177] разные сорта	[80]	[175]	[151]
C14:0 Миристиновая	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	0,09–0,24	0,33	2,1	0,28
C14:1 Миристоолеиновая	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	0,14	н/д
C15:0 Пентадециловая	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	0,22	н/д	0,29
C16:0 Пальмитиновая	8,6	8,4	9,0	8,4–8,6	9,6	14,2	7,1	7,14–12,44	7,77	10,26	14,8
C16:1 n-7 Пальмитолеиновая	<0,5	н/д	<0,5	0,6–0,8	н/д	8,5	н/д	0,16–0,53	0,81	4,78	4,74
C18:0 Стеариновая	3,3	3,1	2,2	2,3	2,3	1,7	2,6	2,91–3,84	5,74	8,26	4,64
C18:1 n-9 Олеиновая	17,9	18,4	22,4	19,0–19,9	21,3	27,8	16,3	13,57–20,09	20,95	12,87	23,26
C18:1 n-7 Цис-вакценовая	2,1	2,2	2,0	н/д	2,1	н/д	2,8	1,27–2,29	н/д	н/д	н/д
C18:2 Линолевая	38,6	37,5	35,4	36,2–36,6	40,1	29,1	39,5	33,72–42,35	2,29	28,99	23,79
C18:3 Линоленовая	29,1	30,4	29,0	28,2–28,9	24,7	18,6	31,7	28,13–32,6	30,41	21,78	8,69
C20:0 Арахидиновая	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	0,21–0,49	0,54	0,33	0,85
C20:1 n-9 Эйкозеновая	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	До 0,16	н/д	1,01	0,5
C20:4 Арахидоновая	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	1,62	0,58
н/д – нет данных											

Как видно по данным таблицы 1.1, для масла облепихи подвида *H.Rhamnoides subsp. mongolica* характерно более высокое содержание пальмитиновой и пальмитолеиновой жирных кислот. В общем же разброс по некоторым компонентам достаточно велик. Необычные данные были получены F.V. Dulf для масла мякоти *H. Rhamnoides subsp. carpatica* сорта Serpenta – содержание пальмитолеиновой кислоты 11,05 %, а олеиновой – 53,08 %. Такое высокое содержание олеиновой кислоты не характерно для облепихи, а чаще встречается в оливковом и масле авокадо.

Интересной особенностью подвида *mongolica*, произрастающего на территории России, является преобладание в масле мякоти вакценовой кислоты над олеиновой (изомерия положения двойной связи). По-видимому, биосинтез ненасыщенных жирных кислот в облепихе происходит не по преобладающей для большинства растений схеме А, а по схеме Б с предварительным преобладанием процессов образования двойных связей над процессами наращивания углеродной цепи (рисунок 1.7) [46].

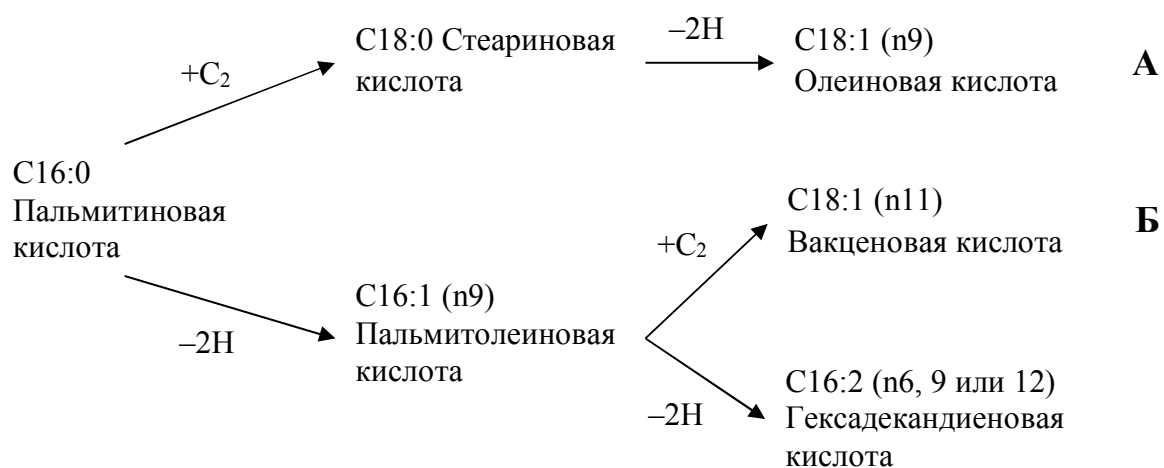


Рисунок 1.7 – Предполагаемая схема синтеза ненасыщенных жирных кислот в облепихе [46]

По данным Т.Г. Жмырко и коллег среднеазиатские образцы масла семян облепихи характеризуются высоким содержанием окисленных триглицеридов до

4,9 %, (для образцов, выращенных на Алтае – 0,1 %). Так как окси-триглицериды отвечают за защитные функции растения, высокое содержание этих соединений является ответной реакцией на повышение и резкие перепады температур и, возможно, на более высокий уровень солнечной радиации. Методом хромато-масс-спектрометрии идентифицировали 26 оксокислот, входящих в состав липидов семян облепихи, основными являются диморфеколовая и кориоловая (изомеры C18:2 кислоты с одной гидроксильной группой) – являющиеся природными фитоалексинами. Основной компонент фракции эпоксикислот – 15,16-эпокси-9,12-октадекандиеновая кислота [42, 62].

В.А. Мироновым и коллегами было установлено наличие 8 % 7-оксононановой кислоты в липидах семян облепихи, выращенной в Армении [56].

Жирнокислотный состав нефракционированного масла практически совпадает с жирнокислотным составом триглицеридов. Это объясняется тем, что масло мякоти практически полностью, а масло семян на 85–90 % состоит из триглицеридов, оставшиеся 10–15 % представляют фосфолипиды. Остальные липидные компоненты (стерины, токоферолы и каротиноиды) составляют 1–3 % масла [162]. Большой интерес для исследователей при этом представляет комбинация жирных кислот в молекуле триглицеридов. Определение состава триглицеридов является более сложной и неоднозначно решаемой задачей, соответственно в литературе имеется значительно меньше данных.

Используя ферментативный гидролиз для изучения состава и структуры триглицеридов масла мякоти, было установлено, что преобладают триненасыщенные триглицериды (72–76 мол %). Изучение триглицеридов масла мякоти и семян с помощью ВЭЖХ показало, что среди триглицеридов масла мякоти преобладают соединения с числом ацетильных атомов углерода 48, 50 и 52 (69 %), в то время как триглицериды масла семян в основном содержат 54 ацетильных атома углерода (74 %). Масло семян облепихи очень похоже на масла других семян (лен, соя), отличается высоким содержанием олеиновой (18:1; 13–19 %), линолевой (18:2; 47–50 %) и линоленовой (18:3; 32–37 %) кислот. Эти ненасыщенные ЖК в основном расположены во втором положении [116]. А.Г.

Verechshagin и V.D. Tsydendambaev определили, что в масле мякоти сибирской облепихи 59–68 % триглицеридов содержат 48 ацильных атомов углерода, основным компонентом является пальмитиндипальметолеин – 27–37 % [157].

Триглицеридный состав масла мякоти и семян облепихи приведен в таблице 1.3.

Таблица 1.3 – Триглицеридный состав масла мякоти и семян облепихи, %

Триглицерид		Масло мякоти		Масло семян		
		[136]	[161]	[161]	[159]	[136]
48:3 [#]		2,15				0,31
48:2	ППоПо	12,65	11,4			1,80
48:1	ПППо	9,45	9,4			1,40
48:0		0,45				–
50:4		1,19				0,39
50:3	ПоПоО	8,05	4,0			1,61
	ПоПЛ		2,5			
50:2	ПоПо	20,70	16,9			3,86
	ПЛЛ		1,1			
50:1		10,93				1,95
52:6	ПЛнЛн	0,36			2,3	2,46
52:5	ПЛнЛ	0,95		6,4	5,6	5,32
52:4	ПЛнО	2,40	4,1		2,3	6,48
	ПЛЛ		4,7		3,4	
52:3	ПЛО	6,94		5,5	2,8	4,54
52:2	ПОО	10,24			0,6	3,13
52:1		0,73				0,36
54:9	ЛнЛнЛн	0,40			3,7	3,10
54:8	ЛнЛЛн	1,03		8,3	13,3	9,06
54:7	ЛЛнЛ	1,61		10,2	15,6	14,80
	ЛнОЛн			4,7	5,6	
54:6	СЛнЛн	1,62			0,9	14,37
	ЛЛЛ			2,8	6,0	
	ЛОЛн			13,9	13,2	
54:5	СЛЛн	1,31		1,0	1,3	10,36
	ОЛЛ			9,7	7,6	
	ООЛн			5,0	2,8	
54:4	СЛЛ	1,11			1,4	5,55
	ООЛ				3,3	
54:3		1,98				2,41
54:2		0,63				0,79
56:5		–				0,44
56:4		–				0,69
56:3		–				0,79
56:2		–				0,68
56:1		–				0,47
Другие*		3,29				2,92

* – общее содержание триглицеридов, содержание которых менее 0,3 %;

– количество ацильных атомов углерода: количество двойных связей;

П – пальмитиновая кислота;

По – пальмитолеиновая кислота;

Л – линолевая кислота;

Лн – линоленовая кислота;

О – олеиновая кислота;

С – стеариновая кислота.

Данные, приводимые В. Yangи Н. Kallio показывают, что состав триглицеридов мякоти облепихи зависит от региона произрастания. Для сибирской облепихи основным компонентом является пальмитинодипальметолеин (пальмитиновая кислота в крайнем положении) – 30,6 %, содержание трипальмитина – 0,4 %, трипальмитолеина 14,4 %, похожие данные демонстрирует центральноазиатская облепиха. Облепиха, выращиваемая на Кавказе, в основном содержит дипальмитиноолеин (олеиновая кислота во втором положении) – 27,3 %, содержание трипальмитина 4,9 %, трипальметолеина – 0,4 % [163].

J.-T. Mörsel et al определили, что в триглицеридах масла мякоти облепихи (Германия) во втором положении в 35 % случаев содержится пальмитолеиновая кислота и в 35 % случаев – олеиновая. Крайние положения преимущественно заняты пальмитиновой (36 %) и олеиновой (34 %) кислотами [139].

В. Yangи Н. Kallio установили, что в масле семян 35 % триглицеридов содержат во втором положении линолевою кислоту, а 23 % – олеионовую. Триглицериды масла мякоти облепихи в 25 % случаев во втором положении содержат пальмитолеоновую кислоту, а в 13 % случаев – олеионовую [161].

Примечательно, что в триглицеридах масла мякоти облепихи олеиновая кислота крайне редко встречается в крайних положениях (не более 1–2 %). Была установлена селективность включения вакценовой кислоты в различные положения триглицеридов – преимущественно в крайние положения. Суммарное

содержание насыщенных жирных кислот во втором положении не превышало 3 % [52].

1.4 Анализ товарного предложения продуктов на основе облепихи

Традиционно облепиховое масло широко используется как компонент различных биологически активных добавок [141, 142], лекарственных препаратов и при производстве косметических средств [150]. В пищевой промышленности чаще используются побочные продукты переработки плодов облепихи с целью получения масла: сок, жом, шрот или же цельные плоды и семена. Продовольственные товары, сырьем для которых являются различные продукты переработки облепихи, представлены на рисунке 1.8.

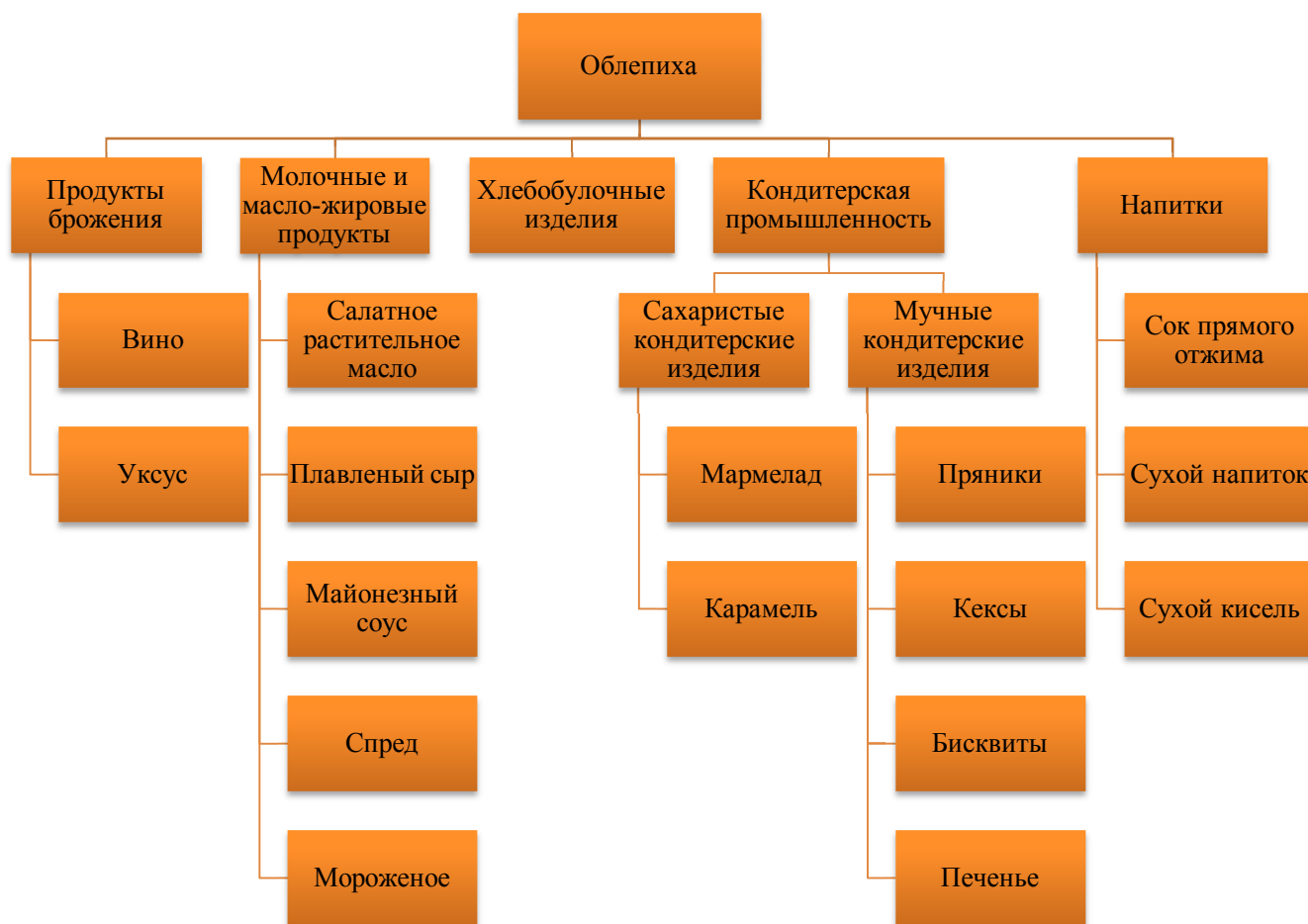


Рисунок 1.8 – Функциональные продукты с облепихой

Измельченные семена облепихи используют в качестве биологически активной добавки в майонезе «Обогащенном» [71].

Облепиховый сок не может являться конечным продуктом, так как он обладает очень высокой кислотностью и представляет собой мутный неустойчивый коллоидный раствор. В настоящее время разрабатываются различные функциональные продукты, в состав которых входит облепиховый сок – это различные хлебобулочные изделия [98], мороженое [5, 49]. Облепиховый сок является сырьем для производства вина [69] и уксуса [67].

Облепиховый жом остается после отжима из плодов масла мякоти. К.Г. Восканян предложена серия витаминизированных салатных масел для лечебно-профилактических диет. Один из продуктов – подсолнечное масло, обогащенное каротиноидами, получаемое масляной экстракцией облепихового жома после предварительной обработкой сырья этанолом. Продукт отличается оптимальным соотношением незаменимых жирных кислот, соответствующим рекомендациям института питания РАМН для жирового рациона людей, имеющих индекс тела выше 32, а высокое содержание каротиноидов и токоферолов делают его применение актуальным при диетпитании [11].

Облепиховый шрот перерабатывается в облепиховую муку, которая наряду со шротом может быть использована при производстве хлеба, что позволяет улучшить химический состав, повысить содержание белков, витаминов и минеральных веществ. Разработана технологическая инструкция на производство плавленого сыра «Облепиховый», содержащего облепиховую муку, и как следствие, обладающего значительно более высоким содержанием витаминов РР и С. Облепиховый шрот добавляют в вафельное тесто и начинку, используют при производстве желейного мармелада, что позволяет обогатить изделие незаменимыми аминокислотами, витаминами, микроэлементами и увеличить срок хранения [98].

Мякоть плодов облепихи вносят в начинку для карамели, что улучшает органолептические показатели и наряду с обогащением продукта позволяет отказаться от использования пищевых красителей и ароматизаторов [165].

Исследования по использованию пюре и мякоти плодов облепихи проводятся сотрудниками КрасГАУ Н.Н. Типсиной и коллегами. Ученые разработали рецептуры и провели оценку органолептических и функциональных свойств сырцовых пряников, бисквитного рулета и кексов с добавлением облепихового пюре, и мармелада с добавлением мякоти плодов облепихи [98].

Л.В. Терещук была разработана схема комплексной переработки плодов облепихи, одним из продуктов которой является биодобавка «Полис», получаемая из нижнего слоя мякоти облепихи. Эту добавку вводят в мороженое, что существенно изменяет витаминный и жирнокислотный состав мороженого, а также увеличивает содержание минеральных веществ [96].

Возрастающий интерес потребителей к функциональным продуктам питания приводит к тому, что при их производстве начинают использовать и достаточно дорогостоящее облепиховое масло. Казахстанскими учеными разработана рецептура печенья «Солнечное», в состав которого входит 10–15 г облепихового масла на 1 кг продукта [70], добавление облепихового масла позволило обогатить продукт витаминами Е, β -каротином и ненасыщенными жирными кислотами. Органолептические и физико-химические показатели печенья соответствовали изделиям отличного качества [84].

А.А. Пурецким и коллегами разработан функциональный майонезный соус, обогащенный прессовым маслом семян облепихи, оценено его качество и окислительная стабильность. Целью введения масла являлось обогащение готового продукта ω -3 и ω -6 жирными кислотами, а так же витаминами групп А и Е [79]. Разработка различных жировых продуктов, обогащенных облепиховым маслом, ведется учеными Кемеровского технологического института пищевой промышленности. Л.В. Терещук и К.В. Старовойтова предложили обогащать майонезный соус антиоксидантной добавкой на основе масла облепихи. Получаемый функциональный продукт отличается высоким содержанием

каротиноидов, придающих готовому продукту оранжево-желтый цвет, и витаминов группы Е [154]. ООО ПКП «Провансаль» (г. Томск) запущено производство «Майонеза Сибирского с облепиховым маслом». Разработана технология введения мякоти облепихи в сливочно-растительные спреды для придания им антиоксидантных свойств и произведена оценка их качества [53], разработан новый вид комбинированного масла из молочно-растительного сырья с использованием масляно-витаминного продукта, полученного из мякоти облепихи [95].

ВНИИ жиров запатентовано салатное масло, в котором в качестве другого растительного масла использовано облепиховое масло или масляный экстракт семян облепихи [64]. Предложено использовать облепиховое масло в качестве дополнительного антиоксиданта в растительно-жировом спреде [68].

В заключении этой главы необходимо отметить:

1. В промышленности основной характеристикой способа выделения является выход продукта. Совершенствование методов выделения облепихового масла концентрата с целью получения продуктов с высокими качественными характеристиками без уменьшения основного экономического критерия – выход продукта, представляется нам целесообразным.

2. Действующие в настоящее время обязательные показатели, определяемые для подтверждения подлинности облепихового масла (содержание каротиноидов и присутствие характерных для масла жирных кислот), не позволяют выявлять смеси облепихового масла с другими, более дешевыми маслами. Для однозначного отнесения продукта к подлинному облепиховому маслу необходимо анализировать триглицериды – основной компонент масла.

3. Большинство описанных выше способов определения жирнокислотного и триглицеридного состава не всегда обеспечивают необходимую точность измерений или же требуют больших затрат времени на проведение анализа, и в большинстве случаев не пригодны для непрерывного контроля в ходе технологической переработки. Поэтому нам представляется целесообразным

разработать доступные для производства методы, позволяющие на основании триглицеридного состава выявлять фальсификацию облепихового масла.

4. Литературные данные показывают, что жирнокислотный состав облепихового масла существенно различается в зависимости от исходного сырья, сорта и условий выращивания. Данные по триглицеридному составу не столь обширны и зачастую получены косвенным путем. Таким образом, прежде чем устанавливать требования к триглицеридному составу облепихового масла необходимо исследовать реализуемые на рынке образцы масла и масло, получаемое по разным технологиям и из разного сырья.

5. Наиболее широко разработанной областью применения полупродуктов переработки облепихи является использование их при производстве лекарственных препаратов и биологически активных добавок. Введение же продуктов переработки облепихи в пищевые продукты в основном находится на стадии научных разработок, при этом отсутствуют сведения о качестве используемых в пищевой промышленности полупродуктов.

ГЛАВА 2. ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Организация эксперимента и общая схема исследований

Исследования и обработка полученных результатов проводились в лабораториях на кафедре «Общей химии и экспертизы товаров» Бийского технологического института (филиал) Алтайского государственного технического университета, им. И.И. Ползунова и в аналитической лаборатории отдела контроля качества ЗАО «Алтайвитамины». Общая схема эксперимента представлена на рисунке 2.1.

На первом этапе работы проведен анализ научно-технической литературы и патентной информации по вопросам товарного предложения продуктов на основе облепихового масла, способов производства и методов контроля качества концентратов облепихового масла. В данном разделе рассмотрены вопросы, касающиеся современного состояния рынка пищевых продуктов на основе облепихового масла. Представлено краткое описание способов выделения концентрата облепихового масла. Изучены проблемы современного состояния качественных характеристик и проанализированы современные методы аналитического контроля растительных масел. Обоснована целесообразность разработки новых методов и характеристик глицеридного состава облепихового масла.

На втором этапе изучена возможность применения метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) для исследования глицеридного состава облепихового масла концентрата. При этом исследованы образцы концентратов облепихового масла разных производителей Алтайского края, изучено влияние технологии выделения и используемого сырья. Изучено изменение состава глицеридов облепихового масла концентрата в зависимости от концентрации облепихового масла в подсолнечном. Получена библиотека спектров ДСК. Обоснованы преимущества и недостатки метода ДСК.

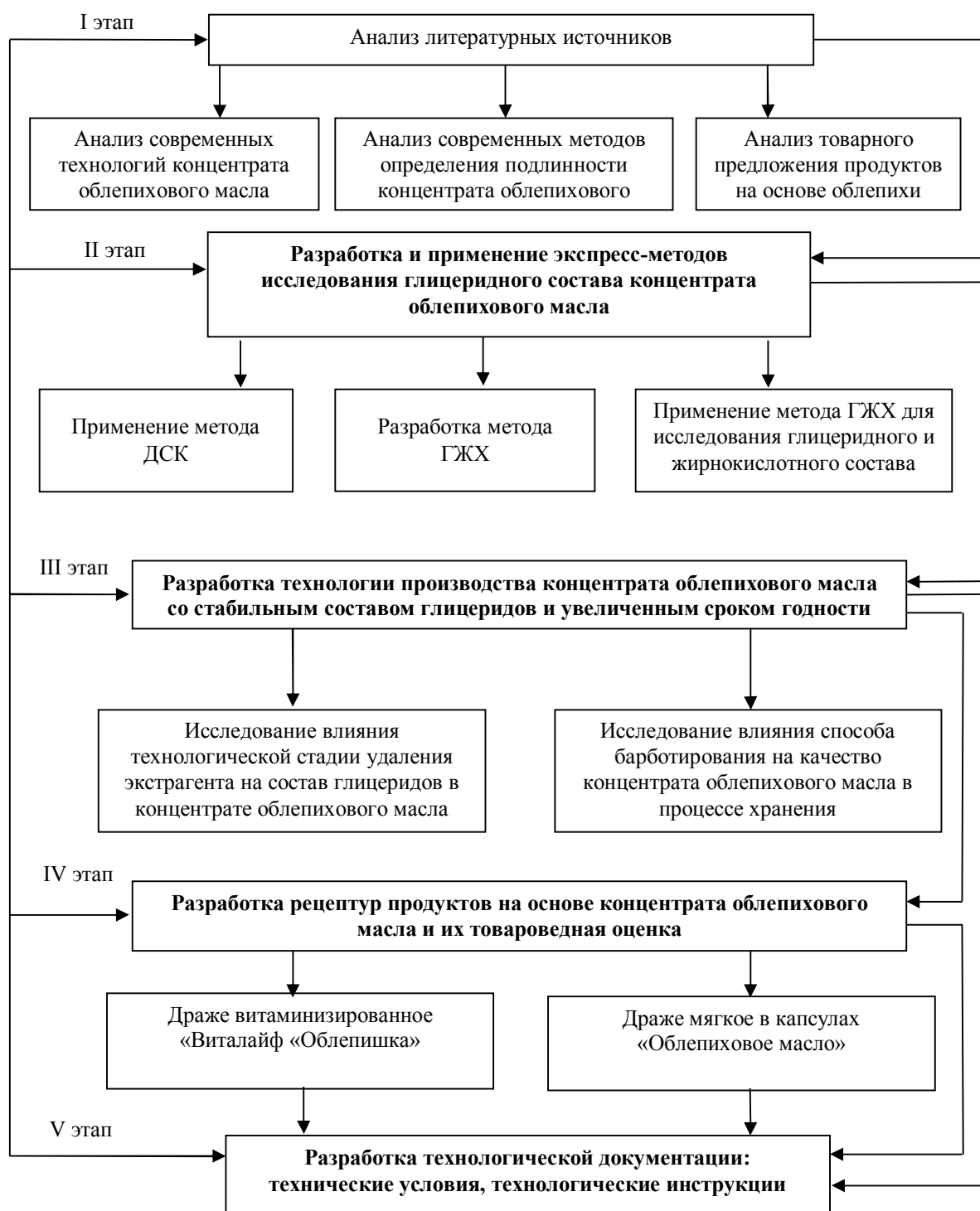


Рисунок 2.1 – Схема эксперимента

На втором этапе изучена возможность применения метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) для исследования глицеридного состава облепихового масла концентрата. При этом исследованы образцы концентратов облепихового масла разных производителей Алтайского

края, изучено влияние технологии выделения и используемого сырья. Исследовано изменение состава глицеридов облепихового масла концентрата в зависимости от концентрации облепихового масла в подсолнечном. Получена библиотека спектров ДСК. Обоснованы преимущества и недостатки метода ДСК.

Разработан метод ГЖХ для определения глицеридного состава концентрата облепихового масла. Подобрано оборудование, определены условия испытания, проведена апробация и валидация метода. Исследованы образцы концентратов облепихового масла различных производителей, изучено влияние технологии выделения и сырья и проведена идентификация смесей облепихового и подсолнечного масел по глицеридному составу.

На третьем этапе на основе принципов ХАССП для применяемой на ЗАО «Алтайвитамины» технологии производства концентрата облепихового масла определено, что стадия удаления остаточного хладона-22 из масла концентрата является критической и требует изменений в технологии. Разработаны основные технологические приемы, изучено изменение качественных характеристик концентрата облепихового масла в зависимости от использования на стадии «барботирования» азота или воздуха. Для исследования влияния азота и воздуха проведены испытания по стабильности полученных концентратов физико-химическими и микробиологическими методами.

На четвертом этапе разработаны рецептуры продуктов на основе концентрата масла облепихи крушиновидной: драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка»; драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло». В качестве основополагающих показателей качества определены регламентируемые действующими НД показатели качества драже, а также содержание БАВ, обуславливающих функциональное назначение.

На завершающем этапе была разработана техническая документация на полуфабрикат – концентрат облепихового масла с улучшенными показателями качества и увеличенным сроком годности, и готовые продукты – драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка» и драже мягкое в капсулах

«Облепиховое масло». Документация включает в себя технологические инструкции, технологические условия, аналитическую методику.

2.2 Объекты и методы исследования

На разных этапах работы объектами исследования являлись:

- ягоды облепихи сорта «Чуйская», собранные на промышленных плантациях Государственного научного учреждения «Научно-исследовательский институт садоводства имени М.А. Лисавенко» Россельхозакадемии в 2012 и 2013 гг.

Ботанико-биологическое описание плодов облепихи сорта «Чуйская», произрастающих в Алтайском крае и собранные на промышленных плантациях ГНУ НИИ: облепиха сорта Чуйская – сорт селекции НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко. Растение невысокое, со средней раскидистой кроной. Ветви средней толщины, отходят от стволика под углом 60-80°. Кора коричневая, с белесым опушением у основания побегов и светло-желтая на концах. Листовая пластинка светло-зеленая. Колючесть очень слабая. Сорт рано вступает в плодоношение. Плоды овально-цилиндрические, оранжевые, сладко-кислые, созревают во второй половине августа. Плодоножка 2-3 мм. Масса 100 плодов 90 г. Средний урожай 11 кг с куста, максимальный – 23 кг. В плодах содержится: витамина С 134 мг%, каротина 3,7 мг%, сахаров 6,4 %, кислот 1,3 %, масла 6,2 % [7].

- образцы концентратов облепихового масла следующих производителей Алтайского края: ООО «Ягодное», ООО «Янтарное», ЗАО «Алтайвитамины», ООО «Алсу», ООО «Алтайский сад», ООО «Сава».

- образцы концентрата облепихового масла, полученные в лабораторных условиях из дробленого жома (продукта получаемого отжатием сока из ягод) разными способами: экстракцией дифторхлорметаном (хладон-22) и ферментативным гидролизом.

Процесс экстрагирования облепихового масла осуществляли в экстракторе в течение 8 часов, с последующим удалением хладона-22. Для получения масла

ферментативным гидролизом использовались ферменты протосубтилин и целюлюкс-А в соотношении 1:1. Масло с использованием осадительных центрифуг получали протираем плодов облепихи через сито для отделения семян и полученную массу центрифугировали до расслоения на три слоя: масло, сок, плодовая мякоть.

- образцы концентрата облепихового масла, полученные из различных частей облепихи: семян, плодовых оболочек, листьев, почек, дробленого жома (получаемого отжатием сока из ягод) облепихив лабораторных условиях методом экстракции хладоном-22.

- образцы промышленных серий производства ЗАО «Алтайвитамины» концентрата облепихового масла.

- лабораторные и производственные образцы разработанных продуктов: драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка» и драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло».

В работе применялись сырье и материалы со следующими характеристиками:

1. Плоды облепихи отжатые, сухие, по ТУ 9164-067-05783969-06. Внешний вид – сыпучая рыхлая масса, состоящая из сухой плодовой мякоти и цельных семян. Запах, вкус – свойственный плодам облепихи. Цвет – оранжево-коричневый. Содержание влаги – не более 7 %. Массовая доля посторонних примесей (веток и других частей растений) – не более 5 %. Массовая доля минеральных примесей – не более 0,5 %. Массовая доля золы – не более 3 %. Содержание суммы каротиноидов – не менее 90 мг%. Массовая доля масла – не менее 13 %. Микробиологическая чистота: КМАФАнМ – не более 50000 КОЕ/г, БГКП (колиформы) в 0,1 г – не допускаются, патогенные в т.ч. сальмонеллы в 25 г – не допускаются, дрожжи – не более 500 КОЕ/г, плесени – не более 500 КОЕ/г. Тяжелые металлы: свинец – не более 0,4 мг/кг, мышьяк – не более 0,2 мг/кг, кадмий – не более 0,03 мг/кг, ртуть – не более 0,02 мг/кг. Пестициды: гексахлорциклогексан (альфа, бетта, гамма-изомеры) – не более

0,05мг/кг, ДДТ и его метаболиты – не более 0,1 мг/кг. Радионуклиды: цезий-137 – не более 800 Бк/кг, стронций-90 – не более 300 Бк/кг [99].

2. Дифторхлорметан (хладон-22) по ГОСТ 8502-93. Массовая доля нелетучего остатка – не более 0,001 %. Кислотность – окраска индикатора не должна меняться. Объемная доля дифторхлорметана – не менее 99,9 %. Массовая доля воды – не более 0,001 %. Объемная доля примесей, определяемых хроматографическим методом – не более 0,1 % [26].

3. Азот особой чистоты 1 сорта по ГОСТ 9293-74 [27], содержащий не менее 99,999 % объемных азота.

4. Масло облепиховое концентрат по PN002959/01-301210 – маслянистая жидкость коричневатого-красного цвета с характерным запахом. Допускается незначительный осадок, растворяющийся при нагревании до 40 °С [102].

Для выполнения аналитических исследований применяли стандартные физико-химические методы анализа. При оценке качества исследуемых образцов драже использованы стандартные методы товароведения.

1. Содержание каротиноидов определяли спектрофотометрически на приборе спектрофотометр UV-2401 РС. Около 0,05 г препарата (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, прибавляют 20–30 см³ гексана, перемешивают, затем доводят объем раствора гексаном до метки. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют тот же растворитель. Содержание суммы каротиноидов в препарате (в пересчете на β-каротин) (X), в мг%, вычисляют по формуле 1.

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10}{a \cdot 2592} = \frac{A \cdot 38,58}{a}, \quad (1)$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

100 – разведение, в миллилитрах;

а – навеска препарата, в граммах;

2592 – $E^{1\%}_{1\text{ см}}$ удельный показатель поглощения β -каротина в гексане при длине волны 450 нм;

10 – содержание β -каротина в 1 мл 1 % раствора, в миллиграммах [102].

2. Жирнокислотный состав определяли методом газовой хроматографии по ГОСТ 30418-96, описанным в пункте 1.2.1 [19]. Для идентификации жирных кислот использовали СО смеси метиловых эфиров фирмы SUPELCOCat. No. 07631-1AMP.

3. Кислотное число определяли титрованием. Около 3 г (точная навеска) препарата помещают в колбу вместимостью 250 см³, прибавляют 150 см³ натрия хлорида раствора 15 %, 0,5 см³ фенолфталеина раствора 1 % и титруют при энергичном перемешивании 0,1 М раствором натрия гидроксида до появления розового окрашивания нижнего слоя, не исчезающего в течение 30 с [29].

4. Число омыления определяли титрованием. Около 2 г (точная навеска) препарата помещают в колбу вместимостью 200 см³, прибавляют 25 см³ спиртового раствора едкого кали (0,5 моль/см³) и кипятят на водяной бане в течение 1 часа. Параллельно нагревают 25 см³ спиртового раствора едкого кали (0,5 моль/см³) – контрольный раствор. Оба раствора разбавляют 25 см³ свежeproкипяченной горячей воды, прибавляют по 1 см³ раствора фенолфталеина и титруют раствором хлористоводородной кислоты (0,5 моль/см³) до обесцвечивания. Разность объемов кислоты пошедшей на титрование исследуемого и контрольного раствора представляет собой число омыления [29].

5. Плотность масла определяли с помощью ареометра [59].

6. Показатель преломления определяли рефрактометрически на приборе рефрактометр RFM 830 [60].

7. Летучие вещества определяли по разности масс до и после нагревания. Около 5 г препарата (точная навеска) помещают в бюкс и нагревают в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С в течение 1 ч [102].

8. Испытание на чистоту – испытания проводят методом газожидкостной хроматографии на хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Цвет

500 М». В испарительную камеру вводят 10^{-3}см^3 искусственной смеси и проверяют порог обнаружения дифторхлорметана (не менее 0,05 %). Интенсивность пика дифторхлорметана на хроматограмме искусственной смеси должна быть не менее чем в четыре раза больше уровня шума. Затем последовательно вводят в испарительную камеру по 10^{-3}см^3 препарата и раствора модельной смеси и регистрируют не менее трех хроматограмм для каждого из растворов в следующих условиях: колонка металлическая ($200\times 0,3$ см), заполненная сорбентом «Seraon», зернением 0,125–0,200 мм; предколонка металлическая ($15\times 0,3$ см), заполненная сорбентом «Seraon» (замена по мере загрязнения); температура термостата колонки – 100 °С; температура испарителя – 150 °С; температура термостата детектора – 120 °С; скорость газа-носителя (гелия) – 20 см³/мин; скорость водорода – 30 см³/мин; скорость воздуха – 300 см³/мин; время выхода пика дифторхлорметана около 2 минут.

На хроматограмме препарата пик дифторхлорметана должен быть менее пика дифторхлорметана на хроматограмме модельной смеси. Содержание дифторхлорметана в препарате (X), в %, рассчитывают по формуле 2.

$$X = \frac{S_x \cdot a_{\text{ст}} \cdot 100}{S_{\text{ст}} \cdot 10} = \frac{S_x \cdot a_{\text{ст}} \cdot 10}{S_{\text{ст}}}, \quad (2)$$

где S_x – площадь пика дифторхлорметана на хроматограмме препарата;

$S_{\text{ст}}$ – площадь пика дифторхлорметана на хроматограмме модельной смеси;

$a_{\text{ст}}$ – навеска дифторхлорметана для приготовления модельной смеси, в граммах [29].

9. Йодное число определяли титрованием. Навеску вещества растворяют в 3 см³ эфира или хлороформа, прибавляют 20 см³ йода монохлорида (0,1 моль/см³), взбалтывают и выдерживают 1 час. Прибавляют 10 см³ раствора йодида калия, 50 см³ воды и титруют раствором тиосульфата натрия (0,1 моль/см³) при постоянном энергичном взбалтывании до светло-желтой окраски, после чего прибавляют 3 см³ хлороформа, сильно взбалтывают, прибавляют 1 см³ раствора крахмала и титруют до обесцвечивания. Параллельно проводят контрольный опыт. Йодное число вычисляют по формуле 3.

$$I = \frac{(a - b) * 0,01269 * 100}{c}, \quad (3)$$

где a – объем раствора тиосульфата натрия в контрольном опыте, см^3 ;

b – объем раствора тиосульфата натрия в опыте с исследуемым веществом, см^3 ;

c – навеска вещества, г [29].

10. Перекисное число определяли титрованием. Около 1,2 г (точная навеска) препарата помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3 , приливают 10 см^3 хлороформа, быстро растворяют, приливают 15 см^3 ледяной уксусной кислоты и 1 см^3 раствора калия йодистого (52 %). Колбу сразу же закрывают, перемешивают в течение 1 мин и оставляют на 5 мин в темном месте при температуре 15–25 °С. Затем добавляют 75 см^3 воды, тщательно перемешивают, добавляют крахмала раствор 0,5 % до появления слабой однородной фиолетово-синей окраски (испытуемый раствор). Выделившийся йод титруют 0,01 М раствором натрия тиосульфата до молочно-белой окраски, устойчивой в течение 5 с. Параллельно проводят контрольный опыт. Перекисное число (X), в миллимолях активного кислорода на 1 кг пробы, вычисляют по формуле 4.

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \cdot 0,01 \cdot 1000}{a} = \frac{(V_1 - V_0) \cdot 10}{a}, \quad (4)$$

где V_1 – объем 0,01 М раствора натрия тиосульфата, израсходованный на титрование испытуемого раствора, в миллилитрах;

V_0 – объем 0,01 М раствора натрия тиосульфата, израсходованный на титрование при контрольном опыте, в миллилитрах;

a – масса навески, в граммах;

0,01 – концентрация натрия тиосульфата, моль/ дм^3 ;

1000 – коэффициент, учитывающий пересчет результата измерения в миллимоли на килограмм [18].

11. Испытания на микробиологическую чистоту проводят в соответствии с требованиями ГФ XII [61].

12. Метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

Процесс плавления образцов масла изучался методом дифференциальной сканирующей калориметрии на приборе DSC-60 (Shimadzu, Япония). Масса навески составляла $10,0 \pm 0,5$ г. До начала опыта измерительная ячейка охлаждалась жидким азотом до температуры минус $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, затем нагревалась с постоянной скоростью $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до температуры плюс $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Опыты проводились в среде азота, расход газа составлял $40\text{ см}^3/\text{мин}$. Для балансировки системы использовался α -кварц. Калибровка прибора была проведена по индию ($T_{\text{пл.}} = 156,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H_f = 28,71\text{ Дж/кг}$). Расчетные данные были получены с использованием программного обеспечения прибора DSC-60.

13. Валидация аналитических методик – это процесс подтверждения достоверности аналитических методик применительно к действующим условиям в лаборатории, оформленный соответствующим документом.

Типичные аналитические параметры валидации:

1. Стабильность – мера способности метода не подвергаться влиянию незначительных, но преднамеренных изменений в параметрах метода и обеспечивает показание его надежности в течение нормального использования. Стабильность испытуемых и стандартных растворов ST (%) оценивают по отношению количества (концентрации) вещества m_t в момент времени t к исходному значению m_0 (формула 5)

$$ST = \frac{m_t \cdot 100}{m_0} \quad (5)$$

Растворы являются стабильными до тех пор, пока $|100 - ST|$ не превышает относительную ошибку определения основного вещества (или примеси) по тестируемой методике. Предоставляют данные, подтверждающие указанные в методике сроки хранения растворов.

2. Специфичность аналитического метода – это способность измерять избирательно и с определенной точностью анализируемое вещество в присутствии компонентов, которые потенциально могут присутствовать в анализируемом веществе.

Определение специфичности проводят сопоставлением результатов анализа образцов, содержащих примеси, продукты разложения или близкие по химическому строению соединения и результатов анализа стандартных образцов, не содержащих примесей. Для готовых лекарственных форм приводят дополнительно результаты анализа образцов, содержащих все ингредиенты, кроме основного действующего вещества (плацебо).

При подтверждении специфичности методик ГЖХ в качестве критерия полноты разделения пиков анализируемого вещества от пиков примесей, системных пиков (из растворителя образца) и пиков «плацебо» используют коэффициент разделения пиков R_s (формула 6):

$$R_s = \frac{\Delta L}{W_{1/2(1)} + W_{1/2(2)}}, \quad (6)$$

где ΔL – разность расстояний времен удерживания разделяемых веществ;

$W_{1/2}$ – ширина пика на половине высоты для разделяемых веществ 1 и 2.

3. Точность – это близость экспериментальных результатов, получаемых с использованием аналитической методики, к истинному значению во всем диапазоне действия аналитической методики. Точность методик анализа должна определяться на гомогенных (однородных) образцах с точно известным содержанием определяемых веществ (аналитов).

Точность должна быть определена на трех уровнях концентраций из установленного диапазона. Точность выражают в виде открываемости R , % известного количества аналита (формула 7):

$$R = \frac{(\text{найденно аналита})}{(\text{введено аналита})} \cdot 100 \quad (7)$$

Определяют так же доверительный интервал ΔR по формуле 8 при заданной вероятности ($P=95\%$) и представляют точность методики в виде: $R \pm \Delta R$

$$\Delta R = \frac{t(P, f) \cdot S}{\sqrt{n}}, \quad (8)$$

где $t(P, f)$ – табличное значение критерия Стьюдента;

f – число степеней свободы;

S – стандартное отклонение, рассчитывают по формуле 9;

n – объем выборки;

$f=n-1$;

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{cp})^2}{f}}, \quad (9)$$

Метод считается точным, если границы открываемости с учетом доверительного интервала ($R-\Delta R$, $R+\Delta R$) не выходят за пределы:

– при количественном анализе субстанций с высоким нормируемым содержанием основного вещества (98 % и выше): 99,0 – 101,0 %;

– при количественном анализе субстанций с содержанием основного вещества, меньшим 98 %, и лекарственных форм: 98,0 – 102 %;

– при количественном определении примесей:

с нормой содержания до 1 % включительно: 90 – 110 %;

с нормой содержания от 0,1 до 1 %: 75 – 125 %;

с нормой содержания примесей менее 0,1 %: 50 – 150 %.

4. Линейность аналитического метода – это его способность получать результаты, которые прямо, либо через точно определенные математические преобразования, пропорциональны концентрации определяемого вещества в образце в пределах данного диапазона.

Линейность устанавливается путем разбавления стандартного основного раствора или на отдельных навесках искусственных смесей компонентов лекарственного продукта. Для определения линейности рекомендуется минимум 7 концентраций (от 70 % до 130 %).

В качестве критерия линейности рассчитывают значение коэффициента корреляции r (формула 10):

$$r = \frac{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - \sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i}{\sqrt{\left[n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2 \right] \cdot \left[n \cdot \sum_{i=1}^n y_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n y_i \right)^2 \right]}}, \quad (10)$$

где n – объем выборки;

x_i – концентрация определяемого вещества в растворе;

y_i – экспериментально измеренное значение.

Визуально линейность подтверждается графиком, показывающим отклонение расчетных значений Y_i от измеренных величин y_i в зависимости от концентрации x_i .

Значение Y_i вычисляются из уравнения линейной регрессии (формула 11):

$$Y_i = a + bx_i, \quad (11)$$

Коэффициенты a и b рассчитываются по формулам 12 и 13:

$$b = \frac{n \cdot \sum_1^n x_i \cdot y_i - \sum_1^n x_i \cdot \sum_1^n y_i}{n \cdot \sum_1^n x_i^2 - \left(\sum_1^n x_i \right)^2}, \quad (12)$$

$$a = \frac{\sum_1^n y_i - b \sum_1^n x_i}{n}, \quad (13)$$

Для проверки того, что какая-то точка данных (x_i, y_i) является «выбросом» относительно модели, описываемой приведенным уравнением линейной регрессии, используют следующий тест:

Рассчитывают параметр t по формуле 14.

$$t = \frac{|y_i - Y_i|}{SD_0 \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(Y_i - y_{cp})^2}{(n-1) \cdot SD_y^2}}}, \quad (14)$$

где y_{cp} рассчитывают по формуле 15;

SD_0 рассчитывают по формуле 16;

SD_y рассчитывают по формуле 17.

$$y_{cp} = \frac{\sum_1^n y_i}{n}, \quad (15)$$

$$SD_0 = \sqrt{\frac{\sum_1^n (y_i - Y_i)^2}{n-2}}, \quad (16)$$

$$SD_y = \sqrt{\frac{\sum_1^n (y_i - y_{cp})^2}{n-1}}, \quad (17)$$

Сравнивают расчетное значение t с табличным величиной критерия Стьюдента t (95 %, $f=n-1$) [29]. Если расчетное значение больше табличного, то с доверительной вероятностью 95 % точка данных не соответствует модели, описываемой приведенным уравнением линейной регрессии.

5. Аналитическая область методики – это интервал между наименьшей и наибольшей концентрациями (количествами) определяемого вещества, включая эти концентрации (количества), в котором:

- соблюдается линейность;
- воспроизводимость не выходит за пределы допустимых значений;
- методика является достаточно точной.

Она должна охватывать все значения концентраций (количеств), которые могут быть получены в ходе выполнения рутинных анализов. Аналитическая область методики выражается в тех же единицах, что и выдаваемые результаты анализа.

Специфичный диапазон зависит от предназначения процесса (таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Установка специфичного диапазона

Вид аналитической процедуры	Специфичный диапазон
1	2
Количественное определение	от 80 до 120 % от номинального содержания
Однородность дозирования	От 70 до 130 % от номинального содержания, если для испытания не требуется более широкий интервал (например, для аэрозолей)
Растворение	± 20 % (абсолютных) от нормируемой величины высвобождения. Например, если установлена норма: не менее 80 % – рабочий диапазон концентраций: 80 – 100 %, при валидации исследуется диапазон концентраций 60 – 120 %.
Определение примесей	От предела количественного определения до 120 % верхнего предела допустимого значения или 50 – 120% от определенного диапазона (методика должна работать при концентрациях от предела количественного определения до

	допустимого значения или, как минимум, от 50 %
Продолжение таблицы 2.1	
1	2
	допустимого значения).
Определение примесей, известных как необычно активные, или способных оказывать токсическое действие или необычный фармакологический эффект	Количественное определение должно соизмеряться с уровнем, на котором примеси должны контролироваться.

6. Прецизионность аналитического метода – это степень согласования между индивидуальными результатами определений, полученными от одной и той же однородной пробы. Прецизионность аналитической методики характеризуют стандартным отклонением SD или относительным стандартным отклонением RSD (формула 18) в %, для серии измерений.

$$RSD = \frac{100 \cdot SD}{x_{cp}}, \quad (18)$$

где SD определяют по формуле 19;

x_{cp} определяют по формуле 20.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{cp})^2}{n-1}}, \quad (19)$$

$$x_{cp} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}, \quad (20)$$

Прецизионность аналитического метода рассматривают на трех уровнях: повторяемость, внутрилабораторная воспроизводимость, межлабораторная воспроизводимость

6.1 Повторяемость – это использование аналитического метода в пределах одной лаборатории за короткий промежуток времени на одном и том же оборудовании одним и тем же аналитиком. Повторяемость должна быть оценена, используя минимум 9 определений из специфичного диапазона (3 концентрации/ 3 повтора) или 6 определений из одной концентрации близкой к номинальной.

Относительное стандартное отклонение должно быть:

- при определении основных веществ в субстанциях $RSD \leq 1 \%$;

- в лекарственных формах $RSD \leq 3 \%$;
- при определении примесей $RSD \leq 10 \%$.

6.2 Внутрिलाбораторная воспроизводимость – это воспроизводимость, относящаяся к результатам, получаемым в одной и той же лаборатории разными аналитиками на разных приборах в течение как минимум нескольких дней при анализе одного и того же гомогенного образца или модельной смеси лекарственной формы в соответствии с валидируемой методикой.

Готовят не менее 6 испытуемых растворов по валидируемой методике. Каждый раствор готовят независимо друг от друга.

Показывают, что статистически эквивалентны стандартные отклонения у аналитиков 1 и 2 (SD_1 и SD_2) с помощью F – критерия Фишера (формула 21) при условии, что $SD_1 > SD_2$.

$$F = \frac{SD_1^2}{SD_2^2}, \quad (21)$$

Вычисленное значение F сравнивают с табличным значением $F(95\%, f_1, f_2)$, где $f = n-1$. Если $F \leq F(95\%, f_1, f_2)$, то стандартные отклонения у двух аналитиков статистически эквивалентны. Доказывают, что средние результаты двух аналитиков (x_1 и x_2) статистически достоверно ($P=95\%$) не отличаются друг от друга.

Вычисляют критерий t по формуле 22.

$$t = \frac{|x_1 - x_2|}{\sqrt{\frac{SD_1^2}{n_1} + \frac{SD_2^2}{n_2}}} = \frac{|x_1 - x_2|}{\sqrt{\frac{SD_1^2 + SD_2^2}{n}}}, \quad (22)$$

где $n=n_1=n_2$.

Вычисленное значение t сравнивают с табличным значением t критерия Стьюдента $t(95\%, f)$, где $f = n_1+n_2-2$.

Если $t < t(P, f)$, то с 95 % вероятностью можно сделать заключение о статистической незначимости средних результатов анализа.

6.3 Межлабораторную воспроизводимость определяют путем сравнения результатов анализа одних и тех же образцов в различных лабораториях.

Например, для методик количественного определения основных веществ показывают, что статистически эквивалентны стандартные отклонения SD_i и SD_j результатов анализов, полученных в разных лабораториях (с помощью F – критерия Фишера). Затем доказывают, что средние результаты двух аналитиков (x_1 и x_2) статистически достоверно ($P=95\%$) не отличаются друг от друга (с помощью t – критерия Стьюдента) по аналогии с внутрилабораторной воспроизводимостью.

7. Предел обнаружения – это наименьшая концентрация анализируемого вещества, которая может быть обнаружена при заданных условиях теста. Для определения предела обнаружения существует ряд методов:

7.1 Основанные на визуальной оценке. Предел обнаружения определяют из анализа искусственных смесей, с известными концентрациями определяемого компонента. Устанавливают минимальный уровень концентрации, при котором компонент может быть определен.

7.2 Основанные на соотношении «сигнал-шум». Этот подход применим только к тем методам, для которых наблюдается шум базовой линии. Для определения соотношения «сигнал-шум» сравнивают величины сигналов, полученные для контрольного опыта и для образцов с низкими концентрациями анализируемого вещества. На основании полученных данных устанавливают минимальную концентрацию, для которой величина отношения «сигнал-шум» составляет обычно от 3 до 2 [171, 113].

14. Органолептические показатели образцов драже (форма, внешний вид, цвет, вкус, аромат, количество слипшихся и деформированных драже, количество драже в 1 кг) – визуальным осмотром, дегустацией и подсчетом по ГОСТ 5897-90 [21].

15. Влажность образцов драже определяли высушиванием до постоянной массы по ГОСТ 5900-73 [23].

16. Общую кислотность определяли титрованием по ГОСТ 5898-87 [22]. Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в навеске, раствором гидроксида натрия в присутствии фенолфталеина до появления розовой окраски.

Кислотность выражают в градусах. Под градусом кислотности понимают количество см³ однонормального раствора гидроксида натрия, пошедшее на нейтрализацию кислоты, содержащейся в 100 г драже.

17. **Определение витамина С** проводили титрованием йодатным методом по ГОСТ 7047-55 [24].

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЛИЦЕРИДНОГО СОСТАВА КОНЦЕНТРАТА ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА

Опыт работы предприятия ЗАО «Алтайвитамины» показал, что существующие требования к качеству облепихового масла концентрата не всегда позволяют выявить случаи фальсификации, таким образом, возникла необходимость стандартизации масла по новым качественным характеристикам, а именно составу триглицеридов. Анализ литературных данных показал, что известные методы определения триглицеридного состава масел отличаются высокой трудоемкостью и стоимостью, так что зачастую не применимы для производственного предприятия.

3.1 Оценка возможности использования метода ДСК

Метод ДСК широко используется для контроля качества масложировой продукции и выявления фальсификации молочного жира пальмовым маслом [90], однако применение данного метода для исследования облепихового масла обнаружено не было.

С учетом особенностей производства и сырьевой базы разных производителей в качестве контролируемого параметра были выбраны кривые плавления, полученные методом ДСК. Проведены исследования образцов облепихового масла концентрата методом ДСК следующих производителей Алтайского края: ООО «Ягодное», ООО «Агровитсад», ЗАО «Алтайвитамины», ООО «Янтарное», ООО «Алсу», ООО «Алтайский сад». Данные представлены на рисунке 3.1.

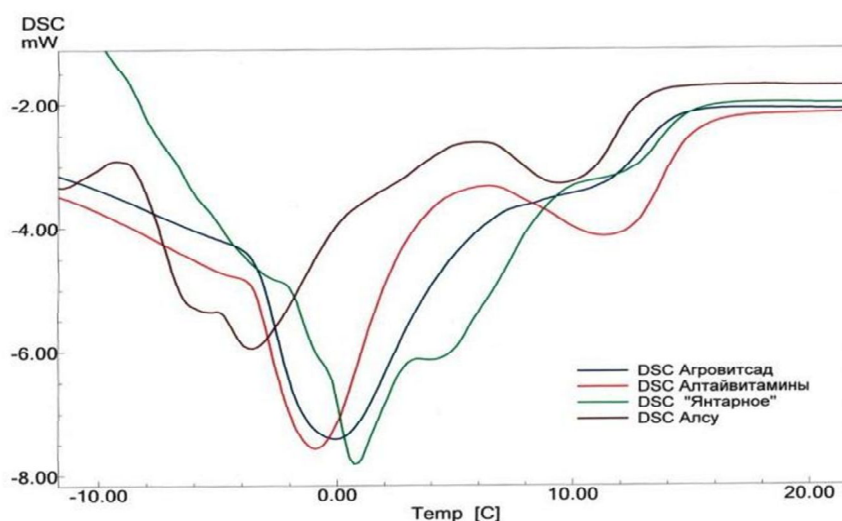
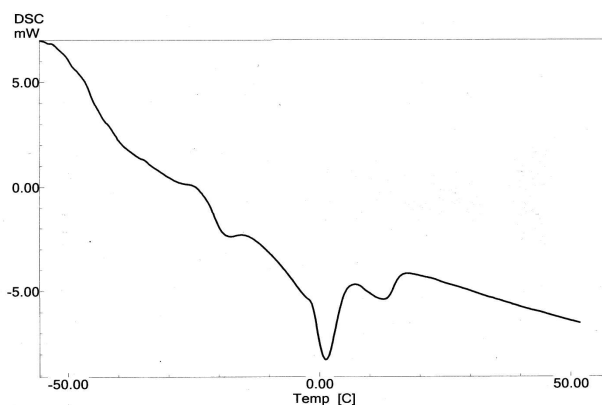
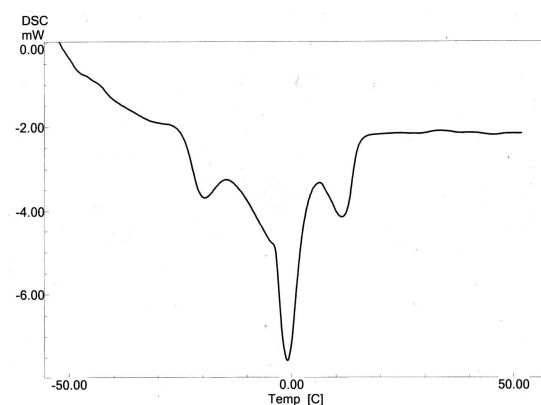


Рисунок 3.1–Кривые фазовых переходов концентратов облепихового масла различных производителей Алтайского края

Индивидуальность кривых плавления концентратов облепихового масла связана с различным глицеридным составом, на который в свою очередь могут влиять технология производства и используемое сырье. Поэтому на следующем этапе было изучено влияние технологии производства на глицеридный состав концентрата облепихового масла.



а)



б)

Рисунок 3.2–Кривые фазовых переходов образцов концентратов облепихового масла, полученные: а) из жома ферментативным гидролизом; б) экстрагированного из жома фреоном-22.

Для изучения влияния сырья на глициридный состав облепихового масла концентрата были изготовлены образцы облепихового масла концентрата, полученного из разных частей ягод облепихи (косточки и плодовой оболочки), экстракцией дифторхлорметаном. Данные представлены на рисунке 3.3.

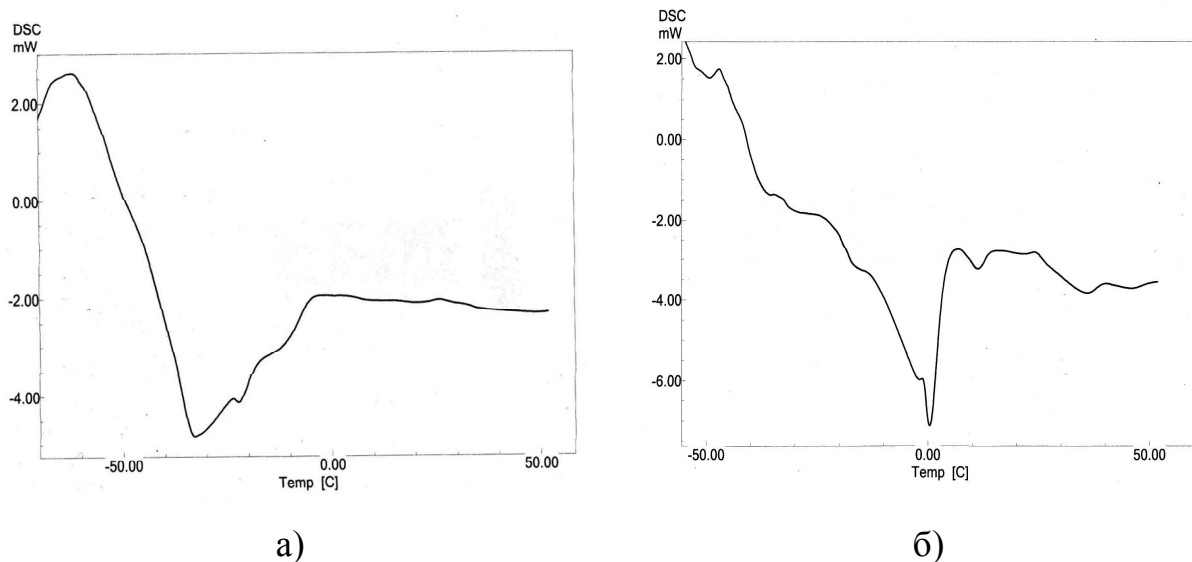


Рисунок 3.3 – Кривые фазовых переходов образцов концентратов облепихового масла: а) из семян облепихи; б) из плодовых оболочек ягод облепихи

Принимая во внимание, что массовая доля кислот незначительна, и поэтому они не могут проявиться на кривой плавления отдельным пиком, а также их изоструктурность с гомологами не позволяет получить более точных и характерных кривых плавления.

Таким образом, было определено, что кривые ДСК описывают процесс плавления многокомпонентных эвтектических смесей, как это описано для молочного жира [137,149], а не индивидуальных триглицеридов. Отмечено также, что во всех образцах вода отсутствует, поэтому обширный эндоэффект в области 0°C не связан с плавлением льда, а является характерной особенностью облепихового масла.

Известно, что самым распространенным способом фальсификации концентрата облепихового масла является его смешение с подсолнечным. Поэтому на следующем этапе работы изучались смеси облепихового масла концентрата с подсолнечным маслом.

Было взято облепиховое масло, полученное ферментативным гидролизом жома ягод облепихи. Для исследования были приготовлены смеси облепихового и подсолнечного масла следующего состава (0/100; 10/90; 20/80; 30/70; 40/60; 50/50; 60/40; 70/30; 80/20; 90/10; 100/0 объемных частей). Результаты ДСК-анализа полученных смесей представлены на рисунке 3.4.

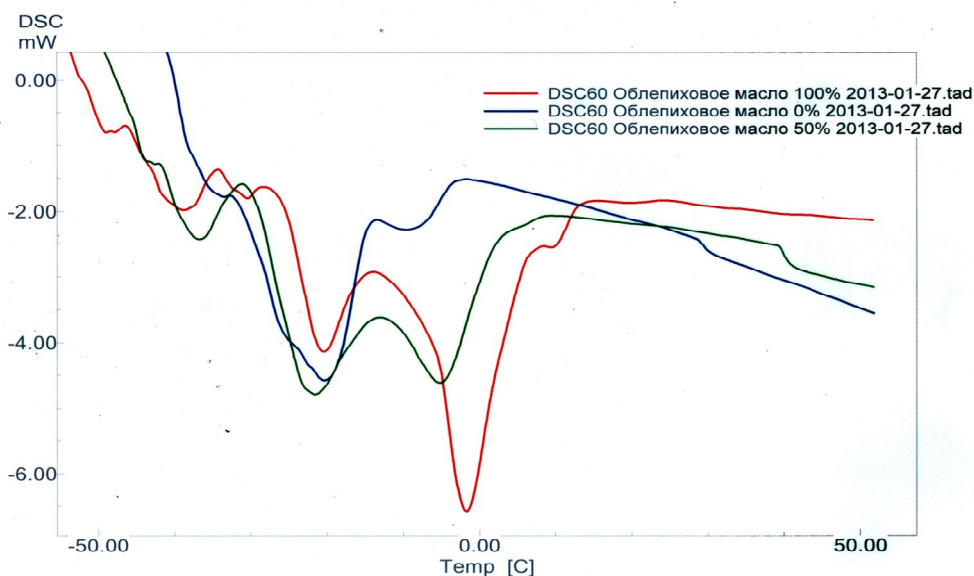


Рисунок 3.4 – Кривые фазовых переходов образцов смесей концентрата облепихового масла с подсолнечным

Смещение максимумов фазовых переходов указывает на взаимную растворимость в системе, а также на возможность идентификации состава смеси по форме кривой ДСК.

Отмечено, что существует зависимость температуры плавления от количественного содержания облепихового масла в смеси (рисунок 3.5). По мере понижения его массовой доли в смеси повышается температура плавления смеси.

Как видно по графику рисунка 3.5, зависимость имеет практически линейный характер, величина достоверности аппроксимации 0,966. Наибольшее отклонение от линейности наблюдали при низких концентрациях облепихового (или подсолнечного) масла в смеси. Метод ДСК может быть использован для анализа смесей концентрата облепихового масла с подсолнечным. Однако данный

метод требует создания библиотеки спектров соответствующих смесей и может быть использован только как качественная характеристика.

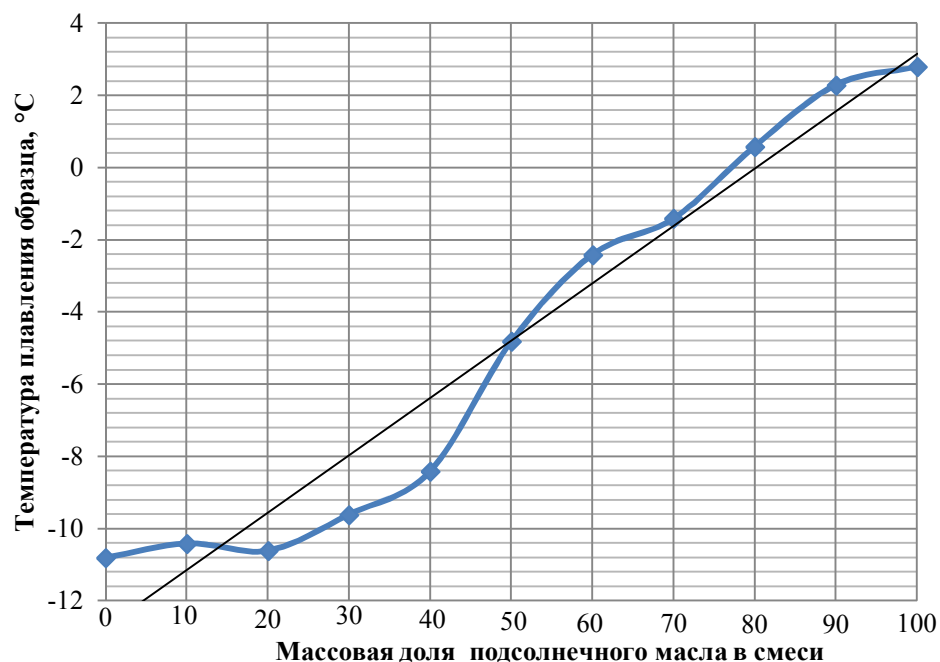


Рисунок 3.5 – Влияние массовой доли подсолнечного масла в смеси с облепиховым маслом на температуру плавления образца

Таким образом, было определено, что полученные кривые плавления индивидуальны, и их можно использовать в установлении производителя концентрата облепихового масла, состава исходного сырья, а также применявшейся технологии выделения при условии создания обширной библиотеки спектров. Учитывая, что кривые ДСК описывают процесс плавления многокомпонентных смесей, а не индивидуальных триглицеридов, сделан вывод о том, что невозможно идентифицировать пики и соответственно определить содержание глицеридов методом ДСК.

3.2 Разработка экспресс-метода ГЖХ для определения состава триглицеридов

В качестве объектов исследования использовались ягоды облепихи сорта «Чуйская», собранные на промышленных плантациях ГНУ НИИ садоводства

имени М.А. Лисавенко Россельхозакадемии в 2012 г. Из ягодного сырья был получен концентрат облепихового масла на ЗАО «Алтайвитамины».

Проанализировав литературные данные [133, 134, 138, 127, 118], было принято решение использовать газовый хроматограф Shimadzu GC-2010 plus и высокотемпературную колонку SE-30, 15 метров. Экспериментальным путем были определены режимы программирования температуры: начальная температура от 60 °С до 200 °С, конечная температура от 300 °С до 380 °С. Конечная температура ограничена термостойкостью неподвижной жидкой фазы и рекомендуемая максимально возможная температура для данной фазы 350 °С. Было принято решение поднять конечную температуру до 365 °С для увеличения скорости выхода компонентов. Далее были проведены эксперименты с вводом пробы. Первоначально концентрат облепихового масла вводили в испаритель, но пики получались «размытыми» (рисунок 3.6).

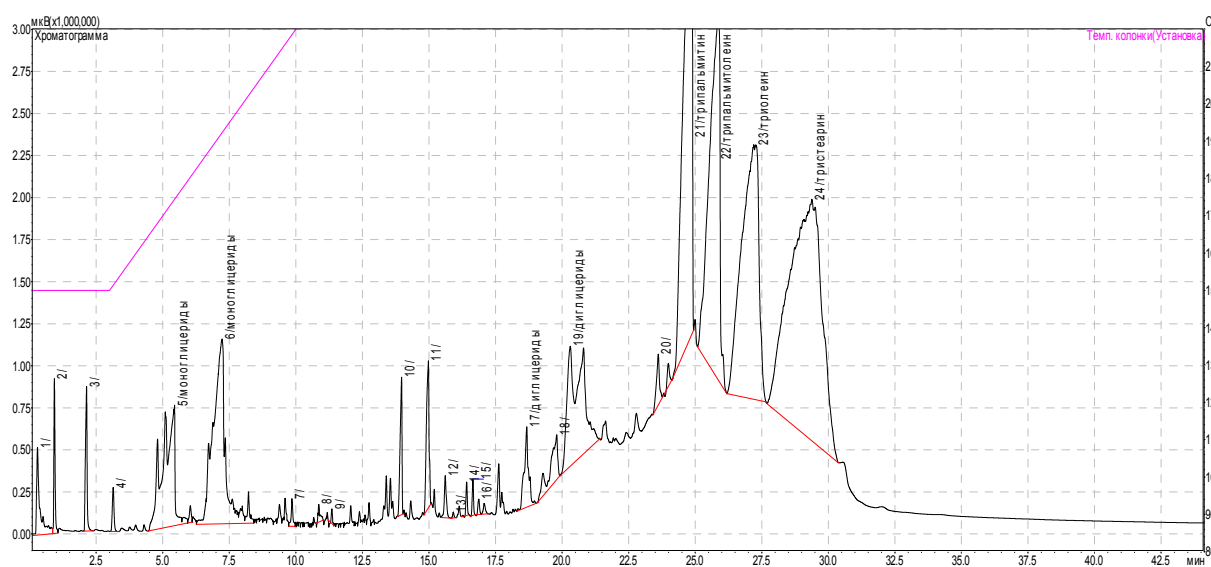


Рисунок 3.6 – Концентрат облепихового масла (прямой ввод в колонку)

Затем пробу масла растворяли в гексане, и вводили гексановый раствор – хроматограмма получилась удовлетворительной (рисунок 3.7). Далее варьировали скоростью потока, делением потока и давлением. В итоге остановились на методике, приведенной ниже.

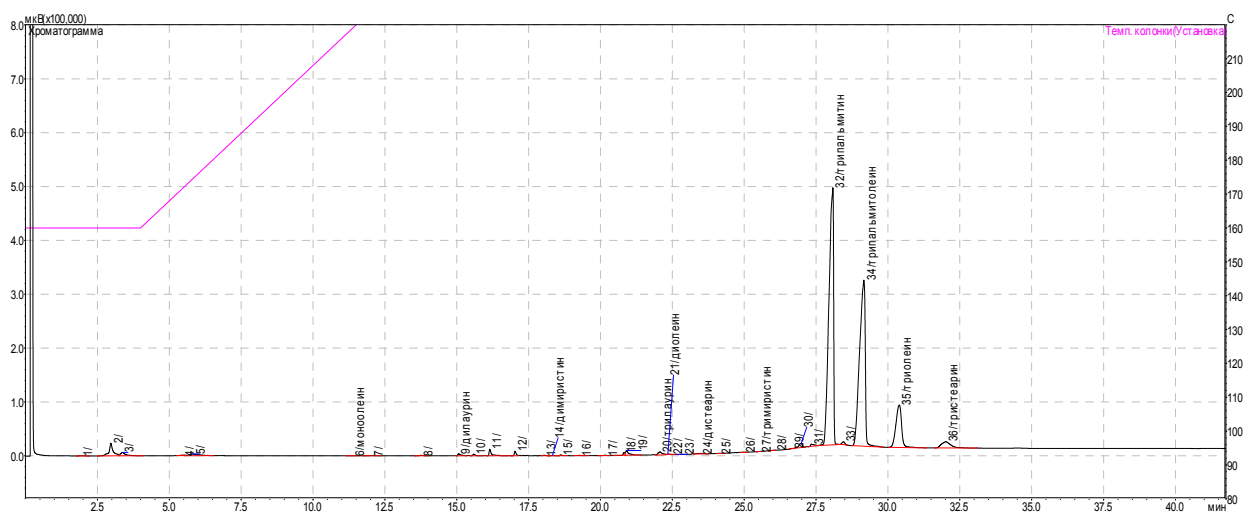


Рисунок 3.7 – Концентрат облепихового масла (ввод с предварительным растворением в гексане)

Образцы для анализа готовили по следующей методике: 0,02 г масла растворяли в 5 см³ гексана; 0,0002 см³ полученного раствора вкалывали в испаритель. Анализ проводился на газовом хроматографе Shimadzu GC-2010 plus при следующих условиях.

Инжектор: температура инжектора 370 °С, поток по колонке 0,75 см³/мин, линейная скорость 33 см/сек., коэффициент деления 10. Колонка: капиллярная SE-30 «Витохром-м», длина 15 м, внутренний диаметр 0,3 мм, толщина пленки 0,25 мкм, неподвижная фаза – полиметилсилоксан, программирование температуры колонки: изотермический режим 4 мин при начальной температуре 160 °С, затем повышение до 365 °С со скоростью 8 °С/мин, время выдержки 15 мин. Общее время анализа 44 мин.

Детектор: пламенно-ионизационный, температура детектора 380 °С, поток воздуха 400 см³/мин, поток водорода 40 см³/мин, поток газа носителя 30 см³/мин, газ-носитель – гелий.

Для идентификации триглицеридов использовали стандарты фирмы SUPELCO Cat. No. 1787-1AMP; MDT12-1KT. Расчеты осуществляли методом нормализации.

Полученные результаты по глицеридному составу интерпретировали как компоненты, совпадающие по времени удерживания со стандартными

веществами. Типичная хроматограмма концентрата облепихового масла представлена на рисунке 3.8.

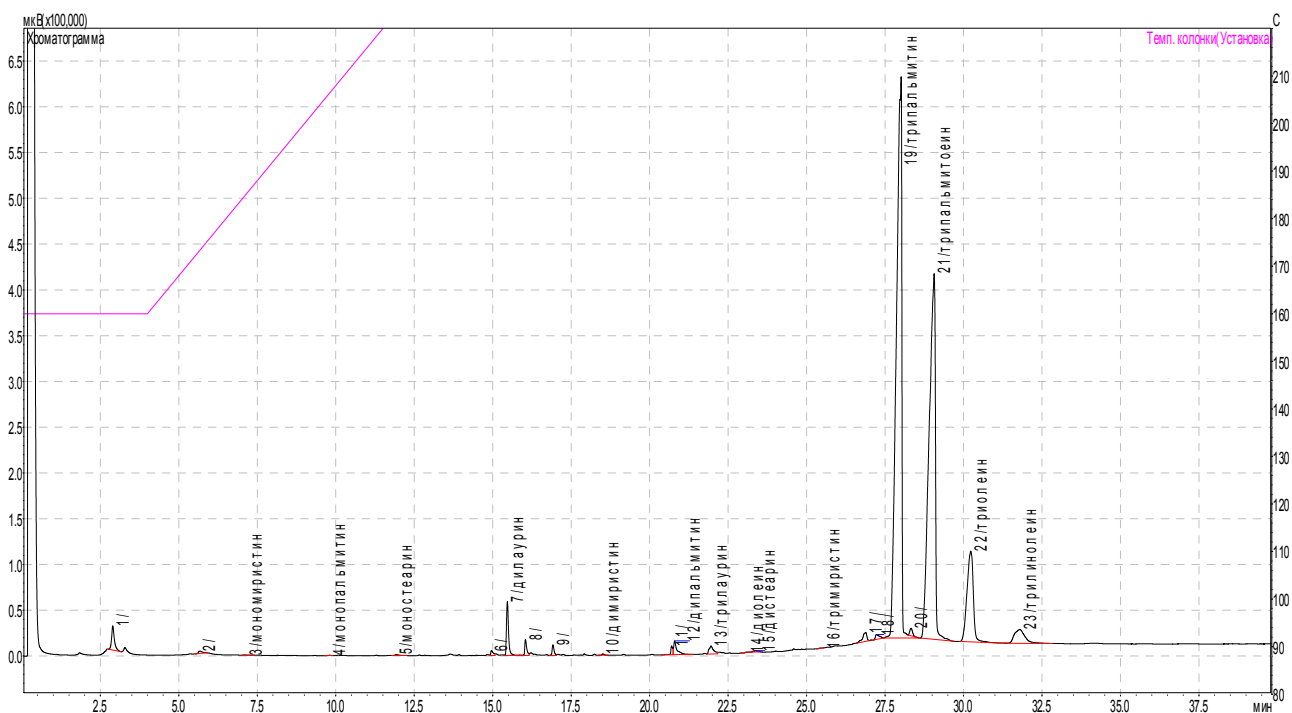


Рисунок 3.8 – Хроматограмма концентрата облепихового масла

Проанализировав полученные данные, сделан вывод о возможности использования прямого метода определения триглицеридного состава облепихового масла концентрата. Для подтверждения воспроизводимости и достоверности разработанной методики проведена валидация метода (Приложение Б).

Для верификации разработанного метода на следующем этапе работы было принято решение проводить сравнительные исследования глицеридов по новому методу и жирнокислотного состава концентрата облепихового масла по стандартной методике [19].

На основании верификационных исследований сделан вывод о том, что преимущество прямого метода определения глицеридов очевидно, по сравнению с методом определения жирнокислотного состава через предварительную пробоподготовку.

3.3 Применение экспресс-метода ГЖХ для определения состава триглицеридов

3.3.1 Глицеридный состав облепиховых масел разных производителей

Для исследования были взяты те же образцы концентрата облепихового масла разных производителей Алтайского края, что и были использованы для исследования методом ДСК. Исследования проводили по определению триглицеридного и жирнокислотного составов. Данные глицеридного состава представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1– Глицеридный состав образцов облепихового масла концентрата, %

Компонент, %	ООО «Ягодное»	ООО «Янтарное»	ЗАО «Алтайвитамины»	ООО «Алсу»	ООО «Алтайский сад»	ООО «Сава»
Монолаурин	–	–	–	–	–	–
Мономиристин	–	–	–	0,02±0,01	–	–
Монопальмитин	–	–	–	0,01±0,003	–	–
Моностеарин	–	–	–	–	–	0,02±0,01
Дилаурин	0,65±0,13	2,56±0,04	0,69 ±0,14	0,24±0,04	0,16±0,02	0,40±0,06
Димиристин	0,03±0,01	–	–	–	–	–
Дипальмитин	1,83±0,03	0,81±0,12	–	–	0,37±0,06	–
Дистеарин	0,07±0,01	0,21±0,03	0,20 ±0,04	–	–	0,06±0,02
Трилаурин	1,57±0,03	0,55±0,08	0,74 ±0,15	0,30±0,05	0,14±0,02	0,18±0,03
Тримиристин	–	–	–	0,02±0,01	–	0,01±0,003
Трипальмитин	38,46±0,40	43,56±0,40	38,16 ±0,40	32,47±0,33	33,39±0,50	44,70±0,67
Триолеин	7,48±0,11	7,86±0,12	9,71 ±0,15	13,16±0,20	8,63±0,13	8,20±0,12
Тристеарин	1,02±0,15	0,81±0,12	0,53 ±0,1	–	0,16±0,02	–
Трилинолеин	–	–	7,67 ±0,15	18,81±0,28	9,20±0,14	0,07±0,02
Трипальмитолеин	32,34±0,48	35,14±0,5	31,28 ±0,5	28,63±0,43	29,06±0,43	36,67±0,55

Отмечено, что состав глицеридов облепихового масла концентрата различных производителей отличается. Но для всех образцов характерно высокое содержание трипальмитина от 32,5 до 44,7 %. Эти отличия обусловлены влиянием технологии производства и используемым сырьем.

Следует также учесть, что триглицериды облепихового масла существуют как в «чистом» виде (т.е. триглицерид состоит из одной жирной кислоты, как в представленных для идентификации стандартах), так и в «смешанном» виде – когда триглицерид содержит радикалы разных жирных кислот. В настоящее

время идентификация таких триглицеридов затруднена из-за отсутствия «смешанных» стандартов.

Известно, что в концентрате облепихового масла традиционно высокое содержание пальмитолеиновой кислоты. Поскольку, в используемых для идентификации стандартах отсутствуют моно-, ди- и трипальмитолеины, то было предположено, что на 29 минуте «выходит» пик трипальмитолеина и для подтверждения был проведен анализ жирных кислот тех же образцов концентрата облепихового масла методом газовой хроматографии (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Жирнокислотный состав образцов облепихового масла разных производителей

Кислота, %	ООО «Ягодное»	ООО «Янтарное »	ЗАО «Алтайвит амины»	ООО «Алсу»	ООО «Алтайский сад»	ООО «Сава»
насыщенные жирные кислоты						
Миристиновая (C14:0)	0,57±0,11	0,76±0,15	0,87±0,17	0,32±0,05	0,41±0,06	0,38±0,06
Пальмитиновая (C16:0)	36,11±0,54	34,52±0,52	36,65±0,55	24,51±0,37	31,15±0,47	34,83±0,52
Стеариновая (C18:0)	1,11±0,11	1,24±0,12	1,27±0,13	2,34±0,23	1,46±0,15	1,29±0,13
Арахидовая (C20:0)	0,25±0,05	0,42±0,08	0,34±0,07	0,29±0,06	0,83±0,17	0,20±0,04
Бегеновая (C22:0)	0,23±0,05	0,61±0,12	0,17±0,03	0,33±0,07	0,57±0,11	0,35±0,07
Всего	38,27	37,55	39,3	27,79	34,42	37,05
мононенасыщенные жирные кислоты						
Пальмитолеино вая (C16:1)	35,98±0,54	34,57±0,52	34,45±0,52	22,38±0,33	30,83±0,46	35,33±0,53
Олеиновая (C18:1)	4,34±0,22	3,04±0,15	5,78±0,29	13,21±0,26	12,93±0,26	4,19±0,21
Вакценовая (C18:1)	5,64±0,28	6,81±0,34	5,76±0,29	4,74±0,24	5,19±0,26	7,56±0,38
Всего	45,96	44,42	45,99	40,33	48,95	47,08
полиненасыщенные жирные кислоты						
Линолевая (C18:2)	11,54±0,23	12,65±0,25	12,12±0,24	27,89±0,42	13,80±0,28	11,78±0,24
Линоленовая (C18:3)	0,82±0,16	1,09±0,22	0,57±0,11	1,04±0,10	1,59±0,16	0,96±0,19
Всего	12,36	13,74	12,69	28,93	15,39	12,74

Как следует из представленных данных, состав жирных кислот облепихового масла различных производителей отличается, но основную долю

составляют пальмитиновая кислота от 24,5 % до 36,6 % и пальмитолеиновая кислота от 22,4 % до 36 %, что подтвердило предположение о присутствии значительного количества трипальмитолеина в концентрате облепихового масла.

Сравнительный анализ данных количественного содержания триглицеридов – трипальмитина и трипальмитолеина и жирных кислот – пальмитиновой и пальмитолеиновой представлен в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Содержание триглицеридов и жирных кислот в образцах облепихового масла различных производителей

Глицерид или кислота, %	Масло облепиховое (100 %)					
	ООО «Ягодное»	ООО «Янтарное»	ЗАО «Алтайвитамины»	ООО «Алсу»	ООО «Алтайский сад»	ООО «Сава»
Трипальмитин	38,46±0,40	43,56±0,40	38,16 ±0,40	32,47±0,33	33,39±0,50	44,70±0,67
Пальмитиновая	36,11±0,54	34,52±0,52	36,65±0,55	24,51±0,37	31,15±0,47	34,83±0,52
Трипальмитолеин	32,34±0,48	35,14±0,5	31,28 ±0,5	28,63±0,43	29,06±0,43	36,67±0,55
Пальмитолеиновая	35,98±0,54	34,57±0,52	34,45±0,52	22,38±0,33	30,83±0,46	35,33±0,53

На основании полученных данных сделан вывод о том, что представленные данные согласуются между собой, но наряду с этим есть существенные отличия. Во первых – содержание трипальмитина во всех образцах больше, чем пальмитиновой кислоты, хотя в анализе данных еще не учитывалось содержание пальмитиновой кислоты в виде моно- и ди- глицеридов. Это показывает преимущество прямого метода, поскольку в процесс пробоподготовки, при определении состава жирных кислот, осуществляется через их этерификацию в метиловые эфиры, которая может происходить не полностью. Во вторых, данные по трипальмитолеину в образцах ООО «Ягодное» и ЗАО «Алтайвитамины» ниже, чем пальмитолеиновой кислоты, что объясняется присутствием пальмитолеиновой кислоты в виде моно- и диглицеридов.

Таким образом, сделан вывод о том, что состав глицеридов разных производителей Алтайского края достоверно отличается. Для исследования причин выявленных отличий на следующем этапе работы было рассмотрено влияние способа выделения концентрата облепихового масла.

3.3.2 Влияние способа выделения масла на глицеридный состав

Для исследования были взяты те же образцы концентрата облепихового масла, что при исследованиях методом ДСК. Концентрат облепихового масла был получен разными способами: экстракцией дифторхлорметаном (хладон-22), ферментативным гидролизом и центрифугированием. Глицеридный состав образцов масла представлен в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Глицеридный состав образцов облепихового масла

Глицерид	Состав масла облепихового, % выделенного		
	экстракцией	центрифугированием	ферментативным гидролизом
Монолаурин	–	–	–
Мономиристин	–	–	–
Монопальмитин	–	–	–
Моностеарин	–	0,020 ±0,004	-
Дилаурин	0,69 ±0,14	0,40 ±0,8	0,09 ±0,02
Димиристин	–	–	–
Дипальмитин	–	–	–
Дистеарин	0,20 ±0,04	0,060 ±0,012	0,020 ±0,004
Трилаурин	0,74 ±0,15	0,18 ±0,03	0,62 ±0,14
Тримиристин	–	0,01 ±0,002	-
Трипальмитин	38,16 ±0,5	44,70 ±0,50	44,37 ±0,50
Триолеин	9,71 ±0,15	8,20 ±0,1	9,28 ±0,15
Тристеарин	0,53 ±0,1	–	0,82 ±0,16
Трилинолеин	7,67 ±0,15	0,07 ±0,01	–
Трипальмитолеин	31,28 ±0,5	36,67 ±0,50	41,06 ±0,50

Экспериментально было установлено влияние способа выделения концентрата облепихового масла на состав глицеридов.

Как следует из представленных данных (таблица 3.4), состав глицеридов облепихового масла различных способов выделения отличается. Но для всех образцов характерно высокое содержание трипальмитина от 38 до 44 % и трипальмитолеина от 31 до 41 %. На основании того, что в качестве источника сырья были использованы одни и те же ягоды, сделан вывод о том, что способ выделения концентрата облепихового масла достоверно влияет на его глицеридный состав. С целью верификации полученных данных в этих же образцах был определен состав жирных кислот, результаты представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Жирно-кислотный состав образцов облепихового масла

Кислота	Состав облепихового масла, полученного методом, %		
	экстракции	центрифугировани я	ферментативного гидролиза
насыщенные жирные кислоты			
Миристиновая (C14:0)	0,87 ±0,17	0,38 ±0,06	0,43 ±0,06
Пальмитиновая (C16:0)	36,65 ±0,5	34,83 ±0,5	23,34 ±0,4
Стеариновая (C18:0)	1,27 ±0,12	1,29 ±0,12	2,05 ±0,2
Арахидиновая (C20:0)	0,34 ±0,06	0,70 ±0,15	0,72 ±0,15
Бегеновая (C22:0)	0,17 ±0,03	0,35 ±0,04	0,77 ±0,15
Всего	39,30	37,55	27,31
мононенасыщенные жирные кислоты			
Пальмитолеиновая (C16:1)	34,45 ±0,5	35,33 ±0,5	19,84 ±0,4
Олеиновая (C18:1)	5,78 ±0,3	4,19 ±0,3	17,21 ±0,4
Вакценовая (C18:1)	5,76 ±0,3	7,56 ±0,3	7,60 ±0,3
Всего	45,99	47,08	44,65
полиненасыщенные жирные кислоты			
Линолевая (C18:2)	12,12 ±0,2	11,78 ±0,2	24,03 ±0,4
Линоленовая (C18:3)	0,57 ±0,1	0,96 ±0,15	1,76 ±0,18
Всего	12,69	12,74	25,79

Как следует из представленных данных, состав жирных кислот облепихового масла различных способов выделения отличается. Основную долю составляют пальмитиновая кислота от 23% до 36% и пальмитолеиновая кислота от 19 % до 35 %.

Сравнительный анализ данных количественного состава триглицеридов – трипальмитина и трипальмитолеина и соответствующим им жирных кислот – пальмитиновой и пальмитолеиновой представлен в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Содержание триглицеридов и жирных кислот в образцах облепихового масла различных методов выделения

Вещество	Состав концентрата облепихового масла, полученного методом, %		
	экстракции	центрифугирования	ферментативного гидролиза
Трипальмитин	38,16 ±0,50	44,70±0,50	44,37 ±0,50
Пальмитиновая	36,65±0,50	34,83±0,50	23,34±0,50
Трипальмитолеин	31,28 ±0,50	36,67 ±0,50	41,06 ±0,50
Пальмитолеиновая	34,45±0,50	35,33±0,50	19,84±0,50

Отмечено, что в концентратах облепихового масла, полученного экстракцией, количества трипальмитина (38,16 %) и пальмитиновой кислоты (36,65 %), трипальмитолеина (31,28 %) и пальмитолеиновой кислоты (34,45 %) близки друг к другу. При выделении концентрата центрифугированием, а особенно ферментативным гидролизом, подобной аналогии не наблюдается. На основании полученных данных сделан вывод о том, что при экстракции получают более «чистые» триглицериды, т.е. состоящие, в основном, из одной кислоты. А при выделении концентрата масла облепихового центрифугированием и ферментативным гидролизом – «смешанные» триглицериды (состоящие из разных кислот), т.е. происходит переэтерификация триглицеридов.

Таким образом, сделан вывод о том, что метод выделения влияет на строение и состав триглицеридов облепихового масла. Высокая «сходимость» между двумя методами наблюдается в случае использования метода экстракции для выделения концентрата облепихового масла, поэтому на следующем этапе работы для изучения влияния сырья был выбран метод экстракции дифторхлорметаном.

3.3.3 Влияние исходного сырья на глицеридный состав масла

Для изучения влияния исходного сырья использовались ягоды облепихи сорта «Чуйская», собранные на промышленных плантациях ГНУ НИИ садоводства имени М.А. Лисавенко Россельхозакадемии и в пойме реки Катунь в августе 2013 г.

Для исследования были взяты образцы облепихового масла, полученные методом экстракции дифторхлорметаном (хладоном-22), из различных частей облепихи, что и на этапе исследований глицеридного состава методом ДСК. В полученных образцах исследовали глицеридный состав по разработанному методу и жирнокислотный состав по стандартному методу [19]. Результаты представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Состав глицеридов образцов облепихового масла, выделенного из различных частей растения

Глицерид, %	Масло облепиховое (100 %)				
	Кожура	Жом	Семена	Почки	Листья
Монолаурин	–	–	–	–	–
Мономиристин	0,07±0,01	0,02±0,004	0,02±0,004	2,20±0,44	0,44±0,09
Монопальмитин	0,25±0,05	0,04±0,008	0,06±0,012	1,24±0,019	0,62±0,062
Моноолеин	0,08±0,016	0,07±0,01	0,02±0,004	3,26±0,049	0,68±0,068
Монолинолеин	–	–	–	5,55±0,083	1,35±0,02
Монолинолиат	–	–	–	2,35±0,035	0,17±0,034
Моностеарин	0,71±0,14	0,04±0,008	0,06±0,012	–	–
Дилаурин	0,029±0,01	0,01±0,002	–	0,67±0,067	0,56±0,056
Диолеин	0,22±0,04	0,21±0,04	0,65±0,13	4,73±0,07	0,74±0,074
Дилинолеин	–	–	–	3,37±0,05	1,48±0,022
Димиристин	0,21±0,4	0,006±0,003	0,02±0,004	0,95±0,095	–
Дипальмитин	0,15±0,03	0,19±0,04	0,07±0,01	1,57±0,024	0,10±0,02
Дистеарин	0,41±0,08	0,21±0,04	0,15±0,03	8,25±0,124	0,93±0,093
Трилаурин	0,39±0,08	0,24±0,05	0,09±0,018	0,65±0,13	0,31±0,062
Тримиристин	0,07±0,01	0,05±0,01	0,03±0,006	0,99±0,015	–
Трипальмитин	35,75±0,53	34,72±0,52	8,54±0,17	6,90±0,104	30,04±0,030
Триолеин	1,08±0,10	–	–	0,40±0,08	8,70±0,13
Тристеарин	–	9,80±0,15	–	0,37±0,07	0,92±0,092
Трилинолеин	–	–	49,11±0,49	0,19±0,038	14,41±0,22

Трипальмитолеин	32,90±0,49	29,1±0,44	8,58±0,17	1,46±0,022	18,84±0,28
-----------------	------------	-----------	-----------	------------	------------

Как следует из анализа представленных данных (таблица 3.7), состав глицеридов облепихового масла из различных частей растения достоверно отличается. Так, для масла из кожуры, жома и листьев характерно высокое содержание трипальмитина от 30 до 35 %, а в масле из семян и почек содержание трипальмитина значительно меньше от 6,9 до 3,8 %. Масло из семян облепихи отличается от других образцов высоким содержанием трилинолеина 49 %.

Жирнокислотный состав облепихового масла, выделенного из различных частей растения, представлен в таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Состав жирных кислот образцов облепихового масла

Кислота, %	Состав облепихового масла, выделенного из, %				
	Кожура	Жом	Семена	Почки	Листья
насыщенные жирные кислоты					
Миристиновая (C14:0)	0,65±0,13	0,87±0,17	0,2±0,04	0,53±0,011	0,05±0,01
Пальмитиновая (C16:0)	35,0±0,53	36,65±0,55	10,8±0,22	9,61±0,19	20,83±0,31
Стеариновая (C18:0)	1,52±0,15	1,27±0,13	2,7±0,14	2,92±0,15	2,18±0,11
Арахидиновая (C20:0)	0,06±0,012	0,34±0,068	0,23±0,05	0,45±0,09	0,17±0,03
Бегеновая (C22:0)	0,52±0,10	0,17±0,034	1,1±0,11	13,61±0,27	1,35±0,14
Лауриновая (C12:0)	0,03±0,015	0,03±0,015	0,02±0,01	0,19±0,038	0,05±0,01
Лигноцериновая (C24:0)	0,31±0,062	1,11±0,11	0,37±0,07	3,89±0,19	0,32±0,06
Всего	38,09	40,44	15,42	31,2	24,95
мононенасыщенные жирные кислоты					
Пальмитолеиновая (C16:1)	31,66±0,47	34,45±0,51	2,58±0,13	0,50±0,1	23,42±0,35
Олеиновая (C18:1)	4,25±0,21	5,78±0,29	12,04±0,24	3,75±0,19	11,33±0,23
Вакценовая (C18:1)	6,15±0,31	5,76±0,29	1,98±0,01	3,95±0,20	4,66±0,23
Всего	39,06	45,99	16,6	8,20	39,41
полиненасыщенные жирные кислоты					
Линолевая (C18:2)	13,50±0,27	12,12±0,24	35,73±0,54	12,17±0,24	25,57±0,38
Линоленовая (C18:3)	1,08±0,11	0,87±0,17	25,71±0,39	12,87±0,26	3,55±0,18
Всего	14,58	12,99	61,44	25,04	29,12

Как следует из представленных данных, жирнокислотный состав облепихового масла из различных частей растения достоверно отличается. Основную долю в масле из кожуры, жома и листьев составляют пальмитиновая кислота (21-36 %) и пальмитолеиновая кислота (23-34 %). Образец масла из почек выделяется более высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот по

сравнению с другими образцами: бегеновая кислота до 13 %, лауриновая до 0,2 %, лигноцериновая до 4%, но наряду с этим очень низкое содержание пальмитолеиновой кислоты 0,5 %. По содержанию линолевой кислоты значительно выделяется образец масла из семян (до 35 %). Данных по содержанию трипальмитина и пальмитиновой кислоты, трипальмитолеина и пальмитолеиновой кислоты представлено в таблице 3.9.

Таблица 3.9 – Содержание триглицеридов и жирных кислот

Глицерид или кислота, %	Масло облепиховое (100 %)				
	Кожура	Жом	Семена	Почки	Листья
Трипальмитин	35,75±0,53	34,72±0,52	8,54±0,17	6,90±0,104	30,04±0,030
Пальмитиновая	35,0±0,53	36,65±0,55	10,8±0,22	9,61±0,19	20,83±0,31
Трипальмитолеин	32,90±0,49	29,1±0,44	8,58±0,17	1,46±0,022	18,84±0,28
Пальмитолеиновая	31,66±0,47	34,45±0,51	2,58±0,13	0,50±0,1	23,42±0,35

В результате сравнительного анализа данных количественного содержания триглицеридов и соответствующих им жирных кислот, было установлено:

1. Содержания трипальмитина и пальмитиновой кислоты в образцах облепихового масла из кожуры, жома и листьев близки по значениям. Содержание пальмитиновой кислоты в образцах масла из семян и почек выше, чем трипальмитина, что можно объяснить присутствием пальмитиновой кислоты в виде моно- и диглицеридов.

2. Данные по трипальмитолеину и пальмитолеиновой кислоте в образцах облепихового масла из кожуры также близки по значениям. А в образцах масел их жома и листьев также больше пальмитолеиновой кислоты, чем трипальмитолеина, что также объясняется присутствием пальмитиновой кислоты в виде моно- и диглицеридов.

3.3.4 Идентификация смесей облепихового и подсолнечного масла

На следующем этапе работы изучались смеси облепихового масла концентрата с подсолнечным маслом.

Был взят концентрат облепихового масла, полученный на ЗАО «Алтайвитамины» экстракционным способом. Для исследования были приготовлены смеси облепихового и подсолнечного масла следующего состава: 0/100; 10/90; 20/80; 30/70; 40/60; 50/50; 60/40; 70/30; 80/20; 90/10; 100/0 объемных частей. В полученных образцах определяли глицеридный и жирнокислотный составы разработанным методом ГЖХ. Результаты по глицеридному составу представлены в таблице 3.10. Монолаурин, моноолеин, монолинолеин, дилинолеин обнаружены не были.

На основании анализа данных показано, что существует зависимость содержания триглицеридов от количественного содержания облепихового масла в смеси (рисунок 3.9). По мере уменьшения его массовой доли в смеси уменьшается содержание характерных триглицеридов: трипальмитина (от 41,76 до 0,12 %) и трипальмитолеина (от 38,02 до 1,75 %) облепихового масла и, напротив, возрастает количество триглицеридов, характерных для подсолнечного масла – трилинолеина (от 0,98 до 71,35 %) и триолеина (от 9,13 до 22,89 %). Моноглицериды присутствуют в незначительных количествах и были определены не во всех образцах, но динамика понижения их концентрации в зависимости от уменьшения концентрации облепихового масла в смеси также отмечена. Изменение концентрации диглицеридов: димиристина, дипальмитина, дистеарина аналогична три- и моно- глицеридам. Однако концентрация диолеина значительно не изменяется - это можно объяснить присутствием большого количества олеиновой кислоты в подсолнечном масле. Моно- и дилинолеин не обнаружены в исследуемых образцах, что можно объяснить присутствием линоленовой кислоты в виде «чистого» триглицерида – трилинолеина.

Жирнокислотный состав смесей облепихового масла с подсолнечным представлен в таблице 3.11.

Таблица 3.10 – Состав глицеридов смесей концентрата облепихового масла с подсолнечным маслом

Глицерид, %	Концентрат облепихового масла /Подсолнечное масло (объемных частей)										
	100/0	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90	0/100
Мономиристин	0,10±0,02	0,08±0,02	0,05±0,01	0,05±0,01	0,06±0,01	0,05±0,01	0,02±0,004	0,01±0,002	0,05±0,01	–	–
Монопальмитин	0,19±0,04	0,12±0,02	0,13±0,03	0,11±0,02	0,14±0,03	0,10±0,02	0,06±0,01	–	–	0,01±0,002	0,001±0,0005
Моностеарин	0,53±0,11	0,48±0,09	0,30±0,06	0,24±0,05	0,35±0,07	0,29±0,06	0,19±0,04	0,21±0,04	0,11±0,02	0,022±0,004	0,003±0,0006
Дилаурин	0,52±0,10	0,50±0,10	0,44±0,09	0,51±0,10	0,60±0,12	1,22±0,12	0,20±0,04	0,08±0,02	0,30±0,06	0,08±0,02	0,60±0,12
Диолеин	0,23±0,05	0,40±0,08	0,43±0,09	0,45±0,09	0,50±0,10	0,55±0,11	0,52±0,10	0,30±0,06	0,61±0,12	0,40±0,08	0,32±0,06
Димиристин	0,31±0,06	0,27±0,05	0,26±0,05	0,22±0,04	0,19±0,04	0,17±0,03	0,09±0,02	0,07±0,01	0,05±0,01	0,02±0,004	0,01±0,002
Дипальмитин	1,21±0,12	1,33±0,13	0,89±0,09	1,09±0,11	0,76±0,08	0,15±0,03	0,28±0,06	0,29±0,06	0,12±0,02	0,04±0,01	0,008±0,004
Дистеарин	0,87±0,09	0,72±0,14	0,56±0,11	0,59±0,12	0,16±0,03	0,12±0,02	0,08±0,02	0,06±0,01	0,18±0,04	0,06±0,01	0,52±0,10
Трилаурин	0,27±0,05	0,93±0,09	0,84±0,08	0,72±0,07	0,58±0,06	0,20±0,04	0,42±0,08	0,18±0,04	0,23±0,05	0,02±0,004	0,006±0,003
Тримиристин	–	–	–	–	–	–	0,07±0,01	0,04±0,008	0,04±0,008	0,03±0,006	–
Трипальмитин	41,76±0,63	37,50±0,56	34,41±0,52	30,24±0,45	26,46±0,40	22,70±0,34	17,35±0,26	13,23±0,20	8,59±0,13	4,34±0,07	0,12±0,02
Триолеин	9,13±0,14	10,59±0,16	11,78±0,18	12,29±0,18	13,98±0,21	15,06±0,23	15,74±0,24	16,51±0,25	17,46±0,26	19,17±0,29	22,89±0,34
Тристеарин	0,001±0,0005	0,02±0,01	0,03±0,01	0,08±0,02	0,12±0,02	0,09±0,02	0,15±0,03	0,17±0,03	0,06±0,01	0,27±0,05	0,74±0,07
Трилинолеин	0,98±0,20	7,32±0,11	14,19±0,22	21,75±0,33	27,70±0,42	34,31±0,51	46,56±0,70	53,73±0,81	60,89±0,91	68,93±1,03	71,35±1,07
Трипальмитолеин	38,02±0,57	34,97±0,53	32,22±0,48	28,40±0,43	25,19±0,38	21,84±0,33	16,60±0,25	12,94±0,19	8,99±0,14	5,12±0,08	1,75±0,03

Таблица 3.11– Состав жирных кислот в смесях концентрата облепихового масла с подсолнечным маслом

Кислота, %	Концентрат облепихового масла /Подсолнечное масло (объемных частей)										
	100/0	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50	40/60	30/70	20/80	10/90	0/100
насыщенные жирные кислоты											
Миристиновая (C14:0)	0,71±0,14	0,64±0,13	0,57±0,11	0,48±0,10	0,43±0,10	0,35±0,07	0,30±0,06	0,29±0,06	0,21±0,04	0,15±0,03	0,19±0,04
Пальмитиновая (C16:0)	34,58±0,52	31,52±0,47	28,18±0,42	24,65± 0,40	21,87± 0,33	19,04± 0,30	16,28± 0,24	13,79± 0,21	11,03± 0,17	8,51±0,13	5,73±0,09
Стеариновая (C18:0)	1,22±0,02	1,68±0,03	1,92±0,03	2,28±0,03	2,7±0,04	3,05±0,05	3,33±0,05	3,68±0,06	4,20±0,06	4,17±0,06	3,53±0,05
Арахидиновая (C20:0)	1,09±0,01	0,72±0,07	0,59±0,06	0,67±0,07	0,73±0,07	0,64±0,06	0,68±0,07	0,52±0,06	0,43±0,09	0,33±0,07	0,25±0,05
Бегеновая (C22:0)	0,09±0,02	0,02±0,004	0,05±0,01	0,13±0,03	0,15±0,03	0,23±0,05	0,28±0,06	0,32±0,06	0,23±0,05	1,07±0,11	0,65±0,13
Лауриновая (C12:0)	0,04±0,01	0,02±0,004	0,05±0,01	0,02± 0,004	0,03±0,01	0,01±0,002	0,01±0,002	0,04±0,01	0,06±0,01	0,05±0,01	0,004± 0,002
Лигноцериновая (C24:0)	0,25±0,05	0,23±0,05	0,39±0,08	0,24±0,05	0,21±0,04	0,24±0,05	0,22±0,04	0,24±0,05	0,18±0,04	0,14±0,03	0,20±0,04
Всего	37,98	34,81	31,75	28,47	26,12	23,56	21,10	18,88	16,34	14,42	10,55
мононенасыщенные жирные кислоты											
Пальмитолеиновая (C16:1)	31,28±0,47	28,20±0,42	24,64±0,37	20,69± 0,31	17,22±0,26	14,11±0,21	10,86±0,16	8,35±0,13	5,44±0,08	2,77±0,04	0,09±0,02
Олеиновая (C18:1)	4,40±0,07	5,87±0,09	7,24±0,11	8,60±0,13	10,20±0,15	11,34±0,17	12,67±0,19	13,79±0,21	15,24± 0,23	16,46± 0,25	20,17±0,30
Вакценовая (C18:1)	6,27±0,09	5,75±0,09	4,85±0,07	4,17±0,06	3,36±0,05	2,92±0,04	2,36±0,04	1,92±0,03	1,59±0,02	1,08±0,02	0,61±0,06
Всего	41,95	39,82	36,73	33,46	30,78	28,37	25,89	24,06	22,27	20,31	20,87
полиненасыщенные жирные кислоты											
Линолевая (C18:2)	12,48±0,19	18,98±0,28	24,66±0,40	30,54± 0,46	37,37± 0,56	42,17± 0,63	47,87± 0,72	52,28± 0,78	57,20± 0,86	63,00± 0,95	63,61±0,95
Линоленовая (C18:3)	0,96±0,10	0,93±0,09	0,77±0,08	0,67±0,07	0,57±0,06	0,48±0,05	0,39±0,04	0,30±0,06	0,26±0,05	0,18±0,04	0,17±0,03
Всего	13,44	19,91	25,43	31,21	37,94	42,65	48,26	52,58	57,46	63,18	63,78

Анализ данных показал (рисунок 3.9), что содержание жирных кислот в образцах подтверждает динамику изменений содержания триглицеридов в смесях, т.е. содержание пальмитиновой и пальмитолеиновой кислот уменьшается с понижением концентрации облепихового масла в смеси, а содержание олеиновой и линолевой кислот увеличивается.

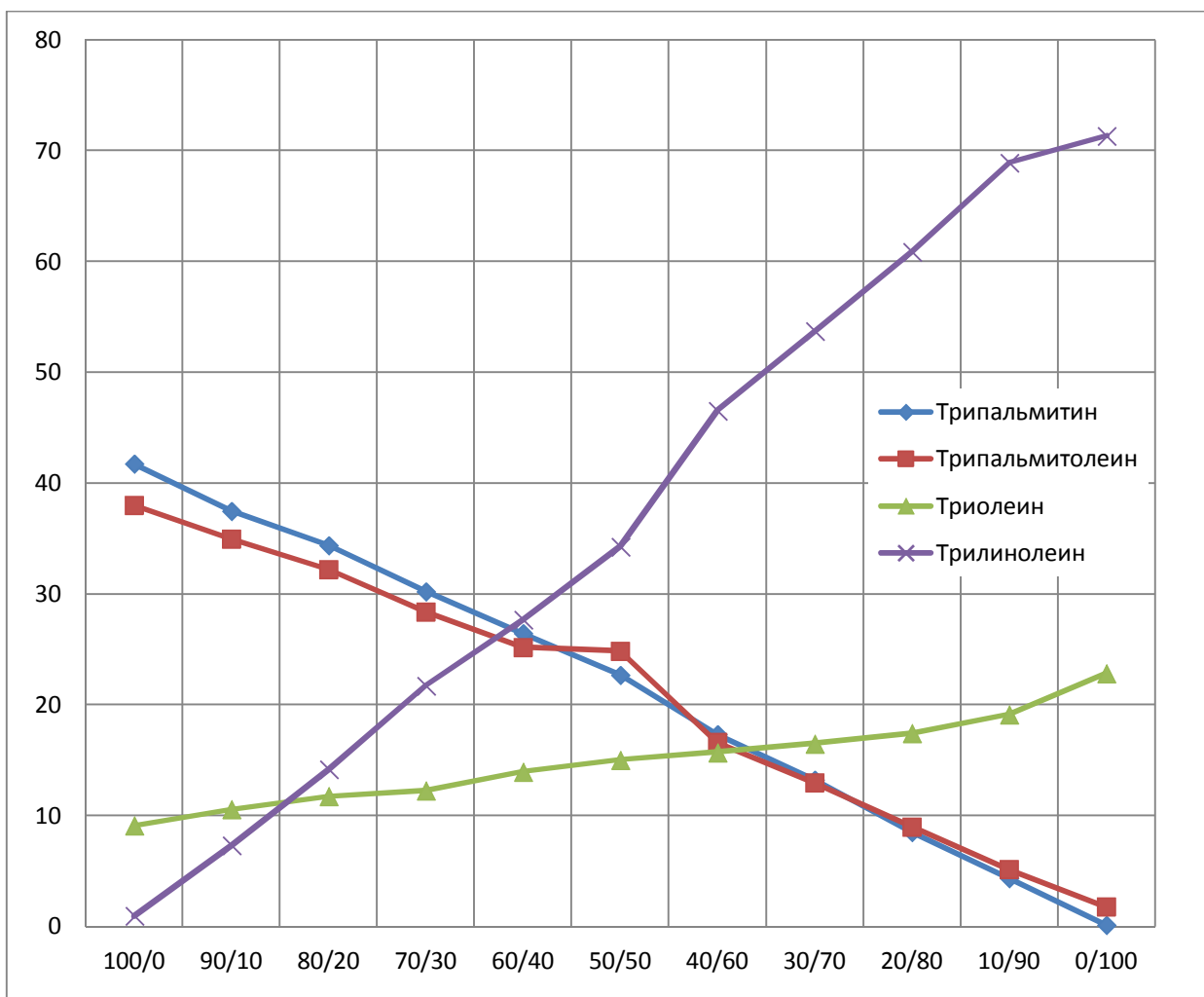


Рисунок 3.9 – Динамика изменений содержания глицеридов в смесях концентрата облепихового масла с подсолнечным маслом

На основании проведенных исследований сделан вывод о том, что разработанный метод может быть использован для идентификации смесей концентрата облепихового масла с подсолнечным маслом.

3.3.5 Стандартизация требований к концентрату облепихового масла

На основании проведенных исследований разработаны и утверждены ТУ 9141-121-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат из разных частей растения» и ТУ 9141-123-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат, полученный по разной технологии (экстракцией, центрифугированием и ферментативным гидролизом)» (Приложения В, Г), включающие требования к содержанию трипальмитина и трипальмитолеина как дополнительные критерии качества облепихового масла концентрата. Принятые требования приведены в таблицах 3.12 и 3.13.

Таблица 3.12 – Дополнительные требования, включенные в ТУ 9141-121-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат из разных частей растения»

Глицерид, %	Масло облепиховое (100 %)				
	Кожура	Жом	Семена	Почки	Листья
Трипальмитин	Не менее 35	Не менее 30	Не менее 7	Не менее 5	Не менее 15
Трипальмитолеин	Не менее 30	Не менее 25	Не менее 5	Не менее 1	Не менее 15

Таблица 3.13 – Дополнительные требования, включенные в ТУ 9141-123-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат, полученный по разной технологии (экстракцией, центрифугированием и ферментативным гидролизом)»

Глицерид, %	Масло облепиховое (100 %)		
	экстракция	центрифугирование	ферментативный гидролиз
Трипальмитин	Не менее 30	Не менее 40	Не менее 40
Трипальмитолеин	Не менее 25	Не менее 30	Не менее 35

Введение данного требования позволяет однозначно идентифицировать масло облепиховое концентрат на стадии входного контроля сырья.

ГЛАВА 4. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА КОНЦЕНТРАТА ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА

4.1 Выявление критической стадии в процессе производства

В настоящее время на предприятии ЗАО «Алтайвитамины» используется метод фреоновой экстракции (хладон-22), представленный на рисунке 1.1 и описанный в разделе 1.1.

По действующей технологии на стадии удаления экстрагента предусмотрено использование воздуха, что стимулирует процессы окисления и ухудшает качество концентрата масла облепихового по показателям кислотное число, содержание каротиноидов [150]. Поэтому был проведен анализ рисков технологии производства концентрата облепихового масла на основе принципов ХАСПП [28].

На первом этапе была проведена идентификация опасных факторов при проведении технологических операций (таблица 4.1). На каждой стадии рассматривали по три опасных фактора: биологический, химический и физический. На основании анализа рисков технологии производства облепихового масла концентрата оценивали вероятность возникновения опасного фактора с обоснованием принятого решения. Далее рассматривали меры для снижения опасного фактора до приемлемого уровня. В заключении принимали решение о необходимости (или нет) введения дополнительных мер по управлению опасностью.

Анкетирование показало, что для стадии удаления остаточного хладона-22 из масла концентрата необходимы дополнительные меры управления опасностью.

На втором этапе была проведена оценка риска и выбор мероприятий по управлению с использованием матрицы решений (Приложение К). Полученные данные приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.1 – Анкета идентификации опасных факторов

Наименование стадии	Опасный фактор/ оценка вероятности возникновения опасного фактора	Обоснование решения	Какие меры могут быть приняты для предотвращения, устранения или снижения опасного фактора до приемлемого уровня	Необходимы ли дополнительные меры управления опасностью? (Д/Н)
1	2	3	4	5
1. Санитарная подготовка производства 1.1 Подготовка персонала 1.2 Подготовка помещений 1.3 Подготовка оборудования	БИОЛОГИЧЕСКИЙ нет ХИМИЧЕСКИЙ нет ФИЗИЧЕСКИЙ нет	Этап не привносит опасностей при соблюдении внутренних стандартов.	Внедренные на предприятии программы обязательных предварительных мероприятий.	НЕТ
2. Подготовка сырья 2.1 Прием сырья 2.2 Измельчение плодов 2.3 Взвешивание сырья	БИОЛОГИЧЕСКИЙ нет ХИМИЧЕСКИЙ нет ФИЗИЧЕСКИЙ да	Этап не привносит опасностей при соблюдении внутренних стандартов, но существует вероятность присутствия посторонних твердых включений .	1. Внедренные на предприятии программы обязательных предварительных мероприятий. 2. Для снижения риска физического фактора до приемлемого уровня внедрено мероприятие по управлению – фильтрация в процессе производства.	НЕТ
Получение облепихового масла концентрата 1. Заполнение установки хладом	БИОЛОГИЧЕСКИЙ нет ХИМИЧЕСКИЙ нет ФИЗИЧЕСКИЙ нет	Этап не привносит опасностей при соблюдении внутренних стандартов.	Внедренные на предприятии программы обязательных предварительных мероприятий.	НЕТ
2. Загрузка измельченных плодов и получение	БИОЛОГИЧЕСКИЙ нет	Этап не привносит опасностей при	Внедренные на предприятии программы обязательных	НЕТ

концентрата масла облепихового	ХИМИЧЕСКИЙ нет	соблюдении внутренних стандартов.	предварительных мероприятий.	
	ФИЗИЧЕСКИЙ нет			

Продолжение таблицы 4.1

1	2	3	4	5
4. Удаление остаточного хладона-22 из шрота и слив концентрата масла облепихового	БИОЛОГИЧЕСКИЙ нет	Этап не привносит опасностей при соблюдении внутренних стандартов и соблюдении условий хранения полупродуктов	Внедренные на предприятии программы обязательных мероприятий.	НЕТ
	ХИМИЧЕСКИЙ нет			
	ФИЗИЧЕСКИЙ нет			
5. Удаление остаточного хладона 22 из масла концентрата	БИОЛОГИЧЕСКИЙ нет	Этап не привносит опасностей при соблюдении внутренних стандартов по биологическому и физическому фактору, но существует вероятность изменения показателей качества по химическому фактору – повышение кислотности.	1. Внедренные на предприятии программы обязательных предварительных мероприятий. 2. Для снижения риска химического фактора до приемлемого уровня не разработано мероприятие по управлению риском. Необходимо разработать технологическую стадию, обеспечивающую снижение риска по химическому фактору в процессе производства.	ДА
	ХИМИЧЕСКИЙ да			
	ФИЗИЧЕСКИЙ нет			
6. Купажирование и слив облепихового масла концентрата	БИОЛОГИЧЕСКИЙ нет	Этап не привносит опасностей при соблюдении внутренних стандартов.	Внедренные на предприятии программы обязательных предварительных мероприятий.	НЕТ
	ХИМИЧЕСКИЙ нет			
	ФИЗИЧЕСКИЙ нет			

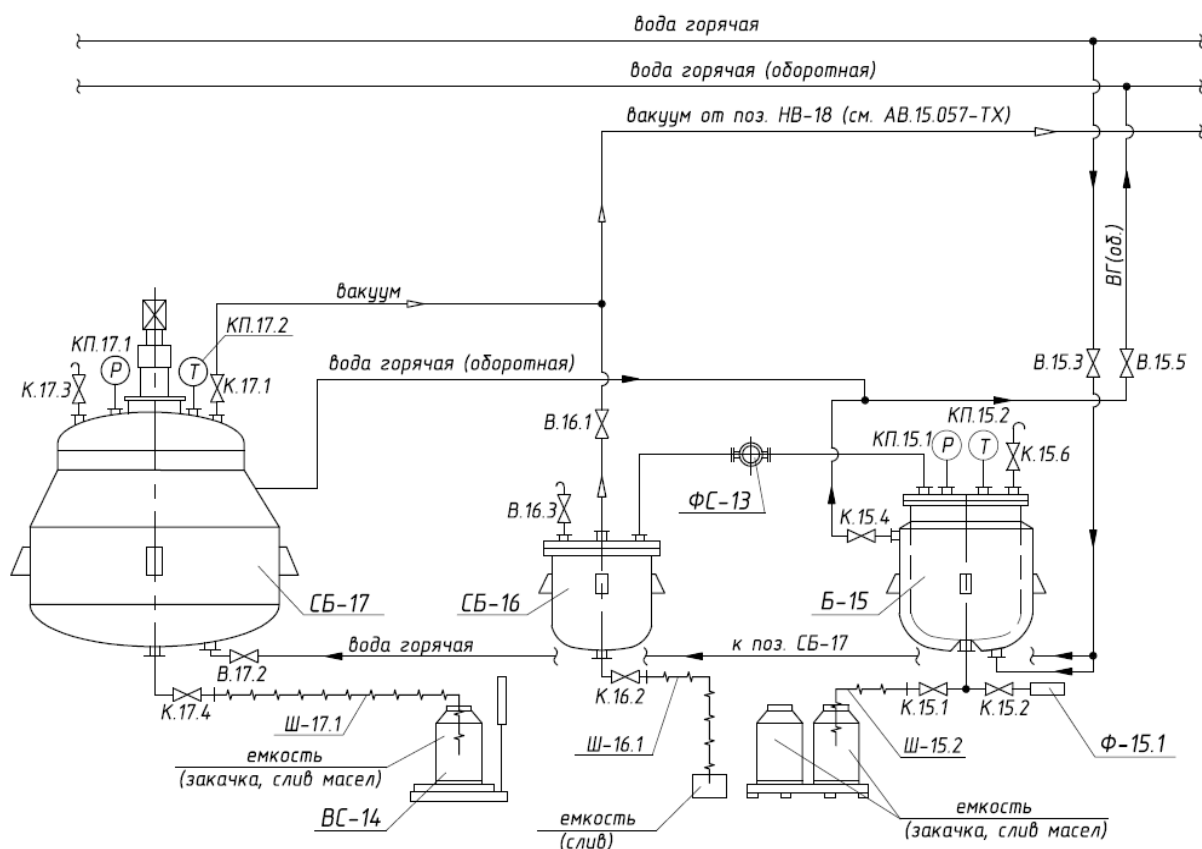
Таблица 4.2 – Оценка риска и выбор мероприятий по управлению рисками

Наименование стадии и опасный фактор	Вероятность возникновения риска	Тяжесть последствий	Уровень риска	Контролируемые критические признаки	Превентивные меры	Определение критических точек по дереву решений					
						1. Существуют ли на данном этапе профилактические меры контроля, изменение этапов технологического процесса или продукта?	1а. Необходим ли контроль на данном этапе?	2. Данный шаг снижает или сокращает до приемлемого уровня?	3. Может ли выявленный риск привести к превышению приемлемого	4. Последующий шаг устраняет выявленный риск или снижает его до приемлемого уровня?	Является ли данный этап ККТ?/№ ККТ
Удаление остаточного хладона-22 из масла концентрата Химический фактор	Вероятно	Средний ущерб	Умеренный	1. Содержание каротиноидов 2. Кислотное число 3. Перекисное число 4. Содержание трипальмитина и трипальмитолеина	Соблюдение действующей технологической инструкции не является достаточной мерой для снижения риска	да	–	нет	да	нет	ККТ

На основе анализа рисков применяемой технологии производства концентрата облепихового масла определено, что стадия удаления остаточного хладона-22 из масла концентрата является критической и требует изменений в технологии.

4.2 Разработка технологической стадии удаления экстрагента

Отличительной характеристикой новой технологии является использование азота на этапе барботирования облепихового масла концентрата. Аппаратурная схема стадии барботирования представлена на рисунке 4.1.



Оборудование: ФС-13 – фонарь смотровой; ВС-14 – весы; Б-15 – барботер; Ф-15.1 – фильтр воздушный; Ш-15.2, Ш-16.1, Ш-17.1 –рукава гибкие; СБ-16 – сборник отделитель; СБ-17 – сборник

Рисунок 4.1 – Схема удаления хладона-22 из облепихового масла концентрата

Обогревают барботер до температуры от 40 до 45 °С. Закачивают масло концентрат из сборников в барботер с помощью вакуума, одновременно фильтруя через фильтровальную ткань, в количестве от 40 до 50 кг. Барботирование ведут азотом от 1,5 до 2 часов. Азот подается с азотной станции NG-81, фармакопейного качества не менее 99,99 % объемных азота.

Масло концентрат сливают в чистые фляги и взвешивают. Отбирают пробу для анализа на содержание хладона-22. При получении положительных результатов масло концентрат подают на операцию купажирования. В случае завышенного содержания хладона в концентрате операцию удаления хладона повторяют.

4.3 Влияния метода удаления экстрагента на качество концентрата облепихового масла

Для изучения влияния технологической стадии удаления экстрагента были исследованы образцы концентрата облепихового масла промышленного производства ЗАО «Алтайвитамины». Образцы масла были «отобраны» на стадии «до барботирования» и в лабораторных условиях было осуществлено моделирование стадии удаления хладона-22 воздухом и азотом. Концентрат облепихового масла подогревали в водяной бане IKAUB4 basic. Сжатый воздух подавали через лабораторный компрессор HAILEAACO – 318, расход воздуха и азота измеряли при помощи ротаметра РМ-А-0,25 ГУЗ. Подачу азота осуществляли через редуктор БАЗО-50-4, расход азота 1,7дм³/ мин в течение 1,5 часов.

В полученных образцах концентрата облепихового масла исследовали состав триглицеридов по описанной в данной работе методике (пункт 3.2). Результаты представлены в таблице 4.3

Исследования показали, что применение азота не привносит изменений в триглицеридный состав облепихового масла концентрата, в отличие от воздуха. В случае применения воздуха происходит снижение количественного содержания

трипальмитина и трипальмитолеина с 47 % до 45 % и с 36 % до 34 % соответственно. Значительных изменений в содержании моноглицеридов – монолаурина, мономиристина, монопальмитина не обнаружено, что можно объяснить небольшими концентрациями веществ. Отмечено снижение концентрации дипальмитина с 0,82 % до 0,28 %.

Таблица 4.3 – Состав глицеридов концентрата облепихового масла после стадии «барботирование»

Глицерид, %	Состав облепихового масла, %		
	До барботирования	После барботирования воздухом	После барботирования азотом
Монолаурин	-	-	-
Мономиристин	0,004	0,23	0,005
Монопальмитин	0,002	0,14	0,01
Моностеарин	0,108	0,14	0,09
Дилаурин	0,117	1,05	0,103
Диолеин	0,019	0,13	0,05
Димиристин	0,056	0,04	0,052
Дипальмитин	0,822	0,28	0,73
Дистеарин	0,13	0,01	
Трилаурин	0,64	0,72	0,646
Тримиристин	0,047	0,06	0,041
Трипальмитин	47,56	45,53	47,54
Триолеин	8,31	8,89	8,35
Тристеарин	-	-	-
Трилинолеин	2,14	2,19	2,15
Трипальмитолеин	36,35	34,49	36,23

Для получения полной информации о качестве образцов облепихового масла концентрата провели исследования на соответствие требованиям фармакопейной статьи Р N002959/01-301210. Результаты представлены в таблице 4.4.

Установлено, что после замены воздуха на стадии барботирования азотом показатели окислительной порчи (кислотное и перекисное числа) ниже, а содержание каротиноидов выше.

Таким образом, преимущества использования азота перед воздухом на стадии барботирования заключаются в следующем:

- не изменяется глицеридный состав концентрата облепихового масла;

– полученный продукт обладает лучшими качественными характеристиками.

Таблица 4.4 –Сравнительная оценка разных способов барботирования облепихового масла концентрата

Показатель	Норма	Способ барботирования	
		воздухом	азотом
1	2	3	4
Описание	Маслянистая жидкость коричневатого-красного цвета с характерным запахом	Маслянистая жидкость коричневатого-красного цвета с характерным запахом	Маслянистая жидкость коричневатого-красного цвета с характерным запахом
Подлинность	Спектрофотометрия – спектр раствора, используемого для количественного определения, в области от 430 до 500 нм должен иметь максимумы поглощения при длинах волн (447±3) нм и (470±3) нм; ГЖХ – время удерживания пиков метиловых эфиров жирных кислот: миристиновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой испытуемого раствора должны совпадать с временами удерживания метиловых эфиров жирных кислот на хроматограмме модельной смеси	Спектр раствора, используемого для количественного определения, в области от 430 до 500 нм имеет максимумы поглощения при длинах волн (447±3) нм и (470±3) нм; время удерживания пиков метиловых эфиров жирных кислот: миристиновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой испытуемого раствора совпадает с временами удерживания метиловых эфиров жирных кислот на хроматограмме модельной смеси	Спектр раствора, используемого для количественного определения, в области от 430 до 500 нм имеет максимумы поглощения при длинах волн (447±3) нм и (470±3) нм; время удерживания пиков метиловых эфиров жирных кислот: миристиновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой испытуемого раствора совпадает с временами удерживания метиловых эфиров жирных кислот на хроматограмме модельной смеси

Содержание трипальмитина, %	Не менее – 40,0	45,53	47,54
Содержание трипальмитолеина, %	Не менее – 35,0	34,49	36,23
Кислотное число	Не более 13,0	9,1	7,3
Число омыления	От 170 до 200	189,1	187,4
Плотность	От 0,913 до 0,922	0,916	0,916
Показатель преломления	От 0,146 до 1,477	1,474	1,474
Летучие вещества, %	Не более 0,25	0,102	0,100

Продолжение таблицы 4.4

1	2	3	4
Испытание на чистоту (содержание дифторхлорметана), %	Не более 0,5	0,33	0,30
Йодное число	От 65 до 85	71,5	70,6
Перекисное число, моль/кг $\frac{1}{2}$ O	Не более 15	9,99	8,26
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных бактерий и грибов (суммарно) не более 10^2 в 1 г или в 1 мл	Менее 10	Менее 10
	Отсутствие энтеробактерий в 1 г или в 1 мл	Менее 10	Менее 10
	Отсутствие <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г или в 1 мл	Не обнаружено	Не обнаружено
	Отсутствие <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г или в 1 мл	Не обнаружено	Не обнаружено
Количественное определение содержания суммы каротиноидов (в пересчете на β -каротин), мг/%	Не менее 300	452,2	469,5

4.4 Влияния метода удаления экстрагента на сохраняемость облепихового масла концентрата

Сохраняемость – одно из важнейших свойств облепихового масла концентрата. Концентрат используется не только для приготовления препарата

«Облепиховое масло», но и входит в состав многих других лекарственных и косметических препаратов. При этом зачастую необходимо, чтобы концентрат обладал минимальными значениями кислотного и перекисного числа. Изначально высокая кислотность ягоды, инициирует процессы окисления в масле, снижая его качественные характеристики и ограничивая область его применения [150]. Очевидно, что при выделении масла необходимо подбирать такие технологии и условия, которые бы позволяли получать качественный препарат, максимально долго сохраняющий свои характеристики.

Для исследования влияния замены воздуха на азот на стадии барботирования на сохраняемость облепихового масла концентрата была изготовлены серии образцов:

– образцы, изготовленные по действующей технологии (серии 10114, 20114, 30114);

– образцы, изготовленные по новой технологии (серии 40114, 50214, 60214).

В течение 1 года и 6 месяцев проводилась оценка по следующим показателям: подлинность, кислотное число, число омыления, показатель преломления, летучие вещества, испытание на чистоту, йодное число, перекисное число, микробиологическая чистота, содержание суммы каротиноидов, содержание трипальмитина и трипальмитолеина, токсичные элементы, микотоксины, пестициды, радионуклиды. Динамика критических показателей: кислотное и перекисные числа, количественное содержание трипальмитина, трипальмитолеина, каротиноидов представлена на рис. 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6.

Как показывают данные рисунка 4.2 скорость роста кислотного числа масла концентрата, полученного при барботировании воздухом (коэффициент наклона 0,31–0,37), более чем в два раза превышает скорость роста кислотного числа масла, полученного при барботировании азотом (коэффициент наклона 0,16–0,17). По показателю кислотного числа образцы, полученные по старой технологии, по истечении года хранения выходят за пределы допустимой нормы. Образцы же полученные по новой технологии даже спустя полтора года хранения

имеют кислотное число ниже предельно допустимого, то есть обладают большей сохраняемостью.

По наклону графиков рисунка 4.3 видно, что перекисное число облепихового масла концентрата растет с одинаковой скоростью независимо от того, какой газ использовался на стадии барботирования.

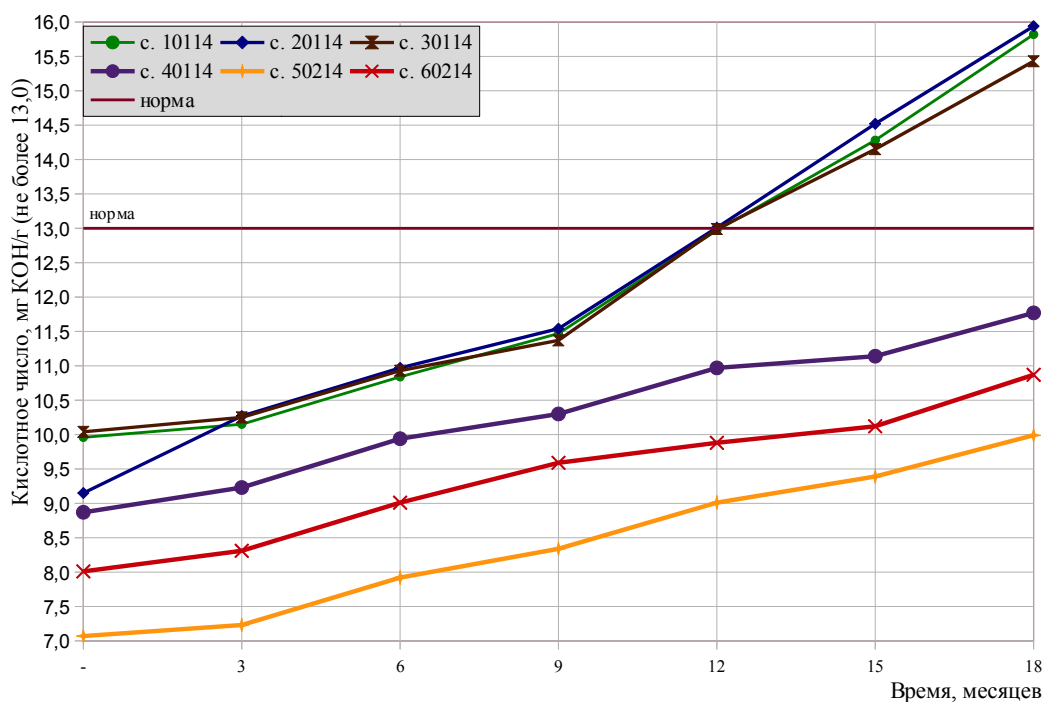


Рисунок 4.2 – Изменение кислотного числа концентрата облепихового масла в процессе хранения

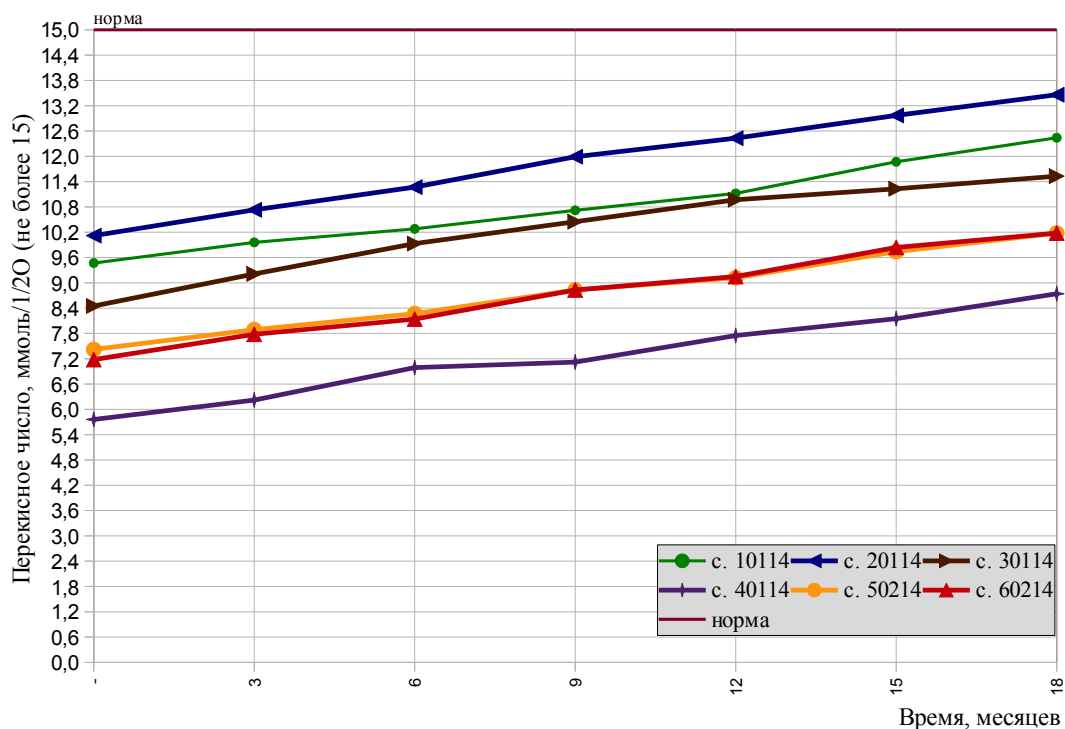


Рисунок 4.3 – Изменение перекисного числа концентрата облепихового масла в процессе хранения

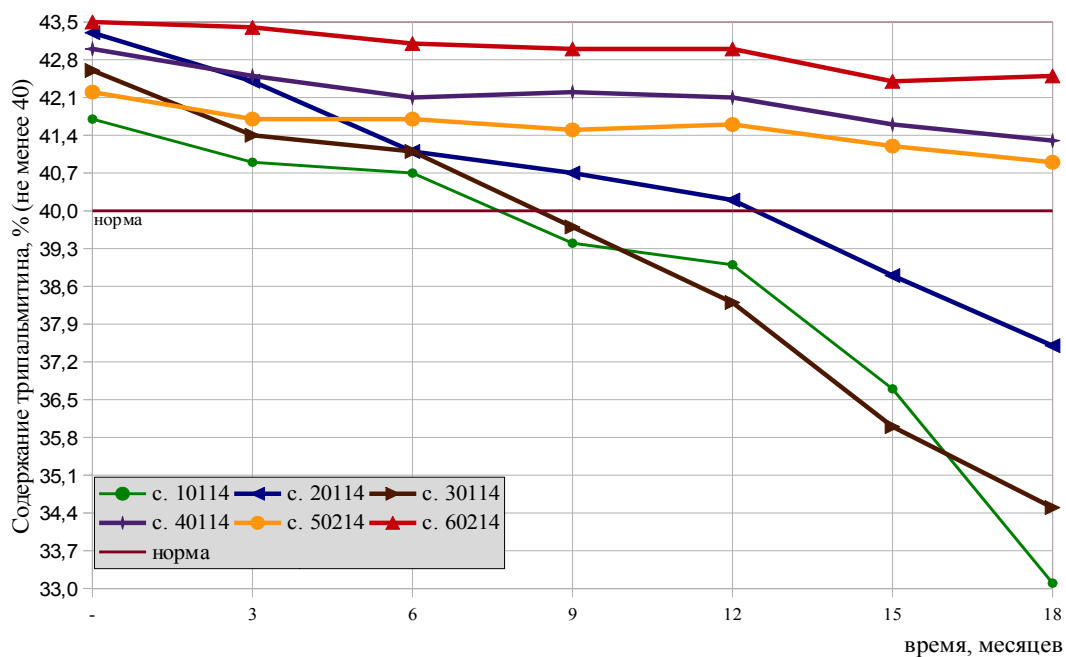


Рисунок 4.4 – Изменение содержания трипальмитина в концентрате облепихового масла в процессе хранения

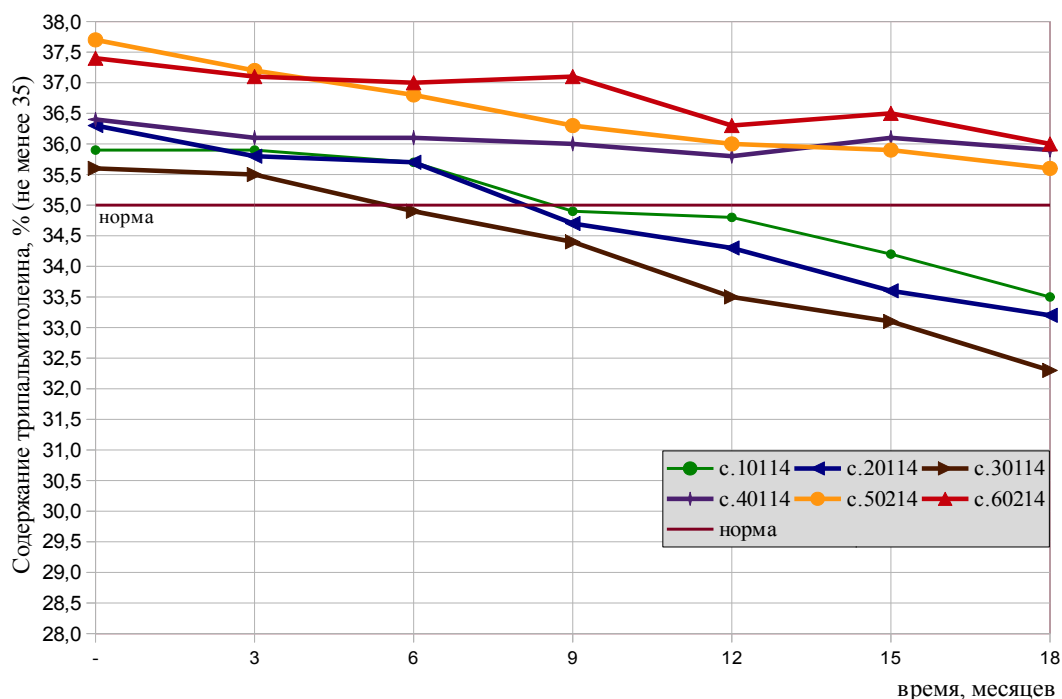


Рисунок 4.5 – Изменение содержания трипальмитолеина в концентрате облепихового масла в процессе хранения

Как показывают данные, представленные на рисунках 4.4 и 4.5, содержание трипальмитина и трипальмитолеина в масле, полученном при барботировании азотом, практически не меняется. Снижение содержания контролируемых триглицеридов в масле, полученном при барботировании воздухом существенно – 6–9 % для трипальмитина и около 3 % для трипальмитолеина.

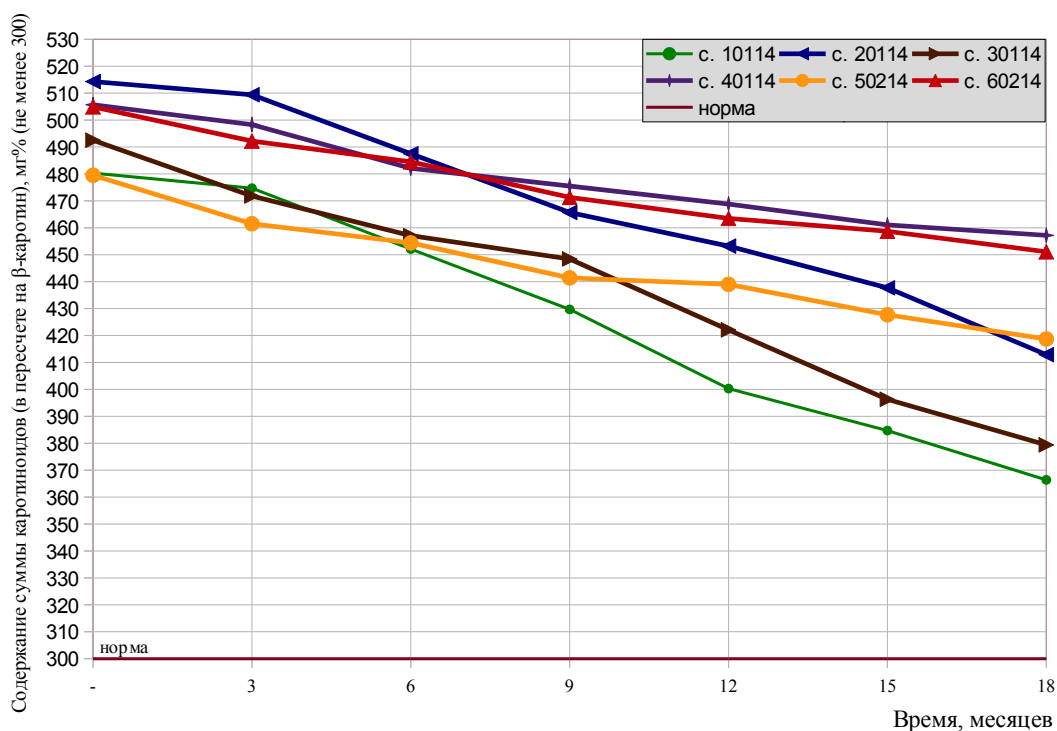


Рисунок 4.6 – Изменение содержания каротиноидов в концентрате облепихового масла в процессе хранения

Графики рисунка 4.6 показывают, что во всех случаях при хранении в течение полутора лет содержание суммы каротиноидов остается на приемлемом уровне, значительно выше нормы. Скорость снижения содержания каротиноидов при хранении масла концентрата, полученного при барботировании азотом, в среднем в два раза ниже (коэффициенты наклона графиков от $-2,78$ до $-3,23$), чем при хранении масла, концентрата, полученного при барботировании воздухом (коэффициенты наклона графиков от $-5,74$ до $-6,86$).

Таким образом, замена воздуха на азот способствует увеличению сохраняемости концентрата облепихового масла – все контролируемые показатели остаются в пределах нормы при хранении в течение полутора лет. Практическое значение имеет тот факт, что скорость роста кислотного числа и скорость снижения содержания каротиноидов при хранении масла, полученного по новой технологии в два раза ниже, чем при хранении масла концентрата,

полученного по традиционной технологии. Что дает основание для увеличения срока годности до полутора лет.

На основании проведенных исследований разработаны ТУ 9141-122-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат «Экстра» (Приложение Д) и технологическая инструкция ТИ 9141-122-05783969-2016 (Приложение Е).

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА РЕЦЕПТУР И ТОВАРОВЕДНАЯ ОЦЕНКА ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА

В рамках выполнения программы государственной политики в области здорового питания разработкой пищевых продуктов на основе растительного сырья занимались многие авторы [73, 34, 105, 44, 3, 41, 93, 94]. Ими проведены научные исследования и разработки по напиткам [111, 110, 107, 13, 43], молочным и масло-жировым продуктам [106, 57, 31, 30, 91, 81] мучным кондитерским и хлебобулочным изделиям [33, 32].

По результатам исследований И.Ю. Резниченко, Ю.Г. Гурьянова, А.И. Галиевой и др. было установлено, что наиболее востребованными функциональными сахаристыми изделиями респонденты считают драже и ирис – 34 %, шоколад и карамель – 16 % и 17 % соответственно. В качестве вариантов для обогащения 38 % респондентов предпочли растительное сырье и комплекс витаминов, что подтверждает увеличивающийся интерес к здоровому образу жизни и питанию. На рынке отсутствуют сахаристые кондитерские изделия, содержащие незаменимые жирные кислоты растительных масел местных растений [35, 12].

На основании результатов собственных исследований и с учетом потребностей регионального рынка научно обоснованы и разработаны рецептуры продуктов на основе концентрата масла облепихи крушиновидной: драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка»; драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло». В качестве основополагающих показателей качества определены регламентируемые действующими НД и ТД [25, 97] показатели качества драже, а также содержание БАВ, обуславливающих функциональные свойства разработанных драже.

5.1 Разработка рецептуры и товароведная оценка драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка»

На основании изучения литературных данных и, учитывая потребность в функциональных продуктах питания, полученных из растительного сырья,

произрастающего в Алтайском крае, подобраны ингредиенты для драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка», предназначенного для реализации через торговую сеть для всех групп населения, обладающего общеукрепляющими и антиоксидантными свойствами и высокими вкусовыми характеристиками.

Подбор ингредиентов рецептуры драже осуществлялся на основе анализа химического состава ягод облепихи и полученного из него концентрата, а также на основе введения необходимых для данной формы продукта технологических добавок с учетом предъявляемых требований по качеству и безопасности. Для оптимизации вкуса драже для базовой рецептуры были дополнительно подготовлены варианты с различным содержанием основных вкусовых компонентов – сахара и концентрата облепихового масла. Созданная из пяти специалистов дегустационная комиссия оценивала вкусовые качества изготовленных в соответствии с рецептурой драже по 30-ти балловой шкале [72] (таблица 5.1).

Таблица 5.1 – Рецептурное соотношение для производства драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка»

№	Наименование компонента	Содержание компонента, г/100 г			НД, регламентирующий качество и безопасность компонента
		Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3	
1	Сахар-песок	82,630	72,630	62,630	ГОСТ 21-94
2	Шрот облепиховый обезжиренный	7,840	17,940	28,080	ТУ 9174-022-05783969-03
3	Патока крахмальная	4,600	4,600	4,600	ГОСТ Р 52060-2003
4	Концентрат масла облепихи	2,240	2,140	2,000	ТУ 9141-122-05783969-2016
5	МКЦ	2,260	2,260	2,260	ТУ 64-11-129-92
6	Премикс витаминный 1–14	0,200	0,200	0,200	ТУ 9366-064-12424308-03
7	Тальк молотый	0,120	0,120	0,120	ФС 42-0066-01
8	Масло подсолнечное	0,016	0,016	0,016	ГОСТ Р 52465-2005
9	Воск пчелиный	0,016	0,016	0,016	ГОСТ 21179-90
10	Краситель Е 120 (кармин 2 %)	0,019	0,019	0,019	ТР ТС 029/2012
11	Краситель Е 160а (бета-каротин 10 %)	0,048	0,048	0,048	ТР ТС 029/2012
12	Ароматизатор пищевой	0,017	0,017	0,017	ГОСТ Р 52177-2003,

					ТР ТС 029/2012
	Масса одного драже, г	0,5	0,5	0,5	

При производстве драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка» за основу взята классическая (традиционная) технология производства витаминизированного драже, особенностью которой является добавление концентрата облепихового масла в сахаро-паточный сироп для окрашивания на этапе накатки полуфабриката драже в котле дражировочном (КД-100). Технология изготовления драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка» регламентирована стандартной операционной процедурой «Порядок приготовления драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка» СОП-ЦГФ-Др-29.

Товароведная оценка драже начата с оценки органолептических показателей (таблице 5.2)

Таблица 5.2 – Органолептические показатели драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка»

Показатель	Контрольный образец	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
Форма	Правильная, сферическая			
Внешний вид	Поверхность ровная, гладкая, блестящая			
Цвет	Желто-оранжевый			
Вкус	Выраженный плодовый (облепиховый), достаточно кислый, послевкусие непродолжительное, кислое, без постороннего привкуса	Приятный, в меру сладкий, с легкой кислинкой, выраженный плодовый (облепиховый), без постороннего привкуса	Выраженный плодовый (облепиховый), достаточно кислый, послевкусие непродолжительное, кислое, без постороннего привкуса	Выраженный плодовый (облепиховый), излишне кислый, послевкусие продолжительное, кислое, без постороннего привкуса
Аромат	Слабовыраженный плодовый	Выраженный, плодовый, приятный, свежий		
Дегустационный балл	23,5	30	27	25
Количество слипшихся и деформированных деталей, % (по массе)	0			
Количество	2000			

драже в 1 кг, шт.	
----------------------	--

По данным таблицы 5.2 видно, что полученные опытные образцы по своим органолептическим показателям соответствуют требованиям ГОСТ 7060-79 [25]. Использование концентрата облепихового масла в рецептуре драже «Виталайф «Облепишка» положительно влияет на органолептические показатели качества. Общий балл дегустационной оценки качества драже с использованием облепихового масла выше на 6,5 баллов в сравнении с контрольным образцом.

Таким образом, для базовой рецептуры отобрано наиболее оптимальное сочетание компонентов (вариант 1), дающее наиболее развитый и гармоничный вкус – приятный, в меру сладкий, с легкой кислинкой, выраженный плодовой (облепиховый), без постороннего привкуса.

Из физико-химических показателей, регламентируемых ГОСТ 7060-79 [25] определяли лишь часть, так как разработанное драже, в зависимости от типа корпуса, относится к сахарному без отделяемого от накатки корпуса (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Физико-химические показатели драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка»

Показатель	Регламентированное значение (по ГОСТ 7060-90)	Действительное значение		
		Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
Влажность, %	0,34–5,5	3,5±0,1	3,5±0,1	3,5±0,1
Кислотность, градусы, не менее	4,0	4,0±0,1	4,6±0,1	5,0±0,1

Поскольку рецептура драже «Виталайф «Облепишка» подбиралась целенаправленно как мультивитаминного продукта, для характеристики функциональных свойств драже, определено содержание ряда витаминов (таблица 5.4).

Таблица 5.4 – Содержание витаминов в драже витаминизированном «Виталайф «Облепишка»

Наименование	Содержание в 100 г драже*
1	2
Витамин А, МЕ	3314±15%
Витамина D ₃ , МЕ	294±15%
Витамина Е, мг	4,9±15%
Витамина В ₁ , мг	1,13±15%
Витамина В ₂ , мг	1,14±15%
Витамина В ₆ , мг	1,2±15%
Витамина В ₁₂ , мг	2,4±15%

Продолжение таблицы 5.4

1	2
Витамина С, мг	67,2
Никотинамида, мг	13,2±15%
Фолиевой кислоты, мг	0,4±15%
Пантотеновой кислоты, мг	4,998±15%
Биотина, мг	0,146±15%
*Содержание витаминов гарантируется технологическими закладками	

Из литературных данных известно, что мощный синергетический эффект в функциональных продуктах достигается при использовании сырья, содержащего каротиноиды, токоферолы, аскорбиновую кислоту и биофлавоноиды [92]. Такое сочетание обеспечивает присутствие как водорастворимых, так и жирорастворимых антиоксидантов, а значит, антиоксидантный эффект будет равносильно проявляться во внеклеточном пространстве (аскорбиновая кислота + биофлавоноиды) и в мембране клетки (жирорастворимые витамины).

По микробиологическим показателям и показателям безопасности драже должно соответствовать требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [97], что подтверждено в ходе исследования (таблицы 5.5 и 5.6).

Таблица 5.5 – Микробиологические показатели драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка»

Показатель	Регламентированное значение (по ТР ТС 021/2011)	Действительное значение
КМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта	не более $2,5 \times 10^3$	Менее 10,0
Масса продукта, г, в которой не допускаются:		
БГКП (полиформы) в 0,1 г	Не допускается	Не обнаружены
Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, в 25 г	Не допускается	Не обнаружены
Дрожжи, КОЕ/1 г	не более 50,0	Менее 10

Плесени, КОЕ/1 г	не более 50,0	Менее 10
------------------	---------------	----------

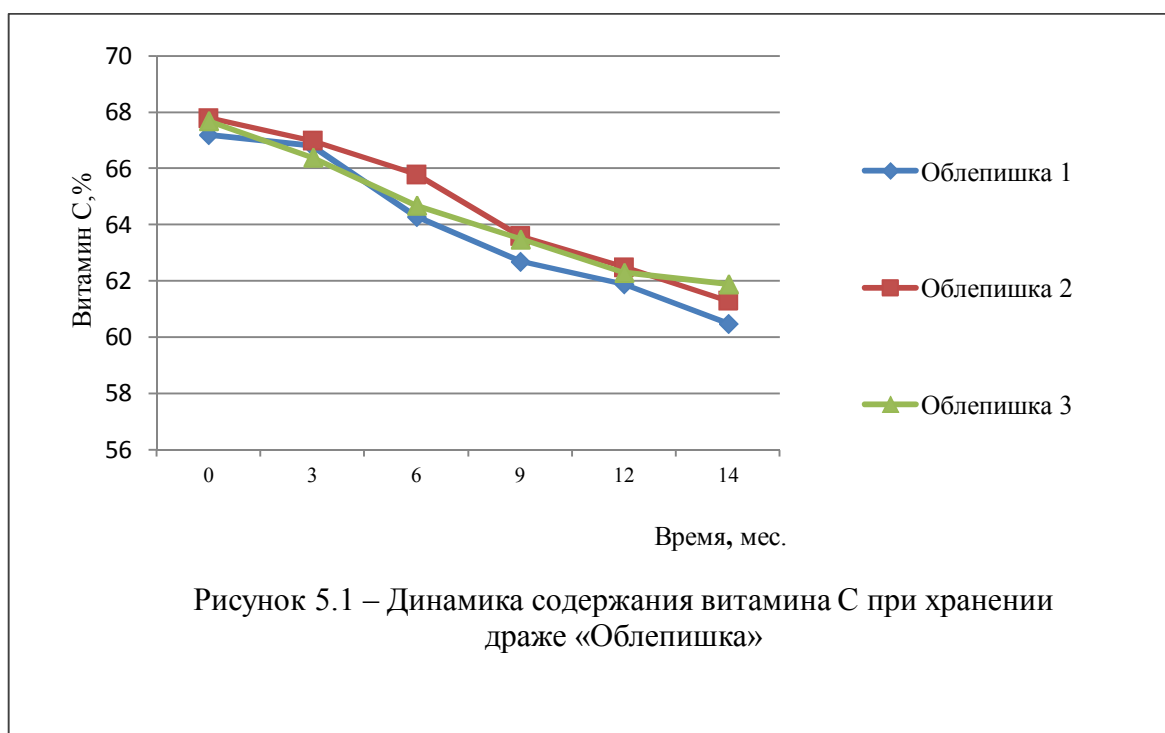
Таблица 5.6 – Показатели безопасности драже витаминизированного «Виталайф» «Облепешка»

Наименование вещества (элемента)		Допустимый уровень содержания, мг/кг, не более (по ТР ТС 021/2011)	Действительное значение
Токсичные элементы	Свинец	1,0	0,09
	Мышьяк	1,0	Менее 0,02
	Кадмий	0,1	0,003
	Ртуть	0,01	Менее 0,002
Пестициды	ГХКЦ (α , β , γ -изомеры)	0,005	Не обнаружено
	ДДТ и его метаболиты	0,005	Не обнаружено

Для определения срока годности осуществляли контроль заложенных на хранение образцов драже в соответствии с основными положениями МУК 4.2.1847-04 с коэффициентом резерва для нескоропортящихся продуктов 1,15 [58]. Продукцию хранили при температуре 18 ± 3 °С и ОВВ 70 ± 5 %, в потребительской, герметично укупоренной таре – банки для пищевых продуктов из полиэтилена с завинчивающейся крышкой массой $50,0 \pm 3,0$ г в течение 14-ти месяцев. Продолжительность хранения определена на основе имеющихся литературных данных [12] и сроками хранения обогащенных и функциональных драже, задекларированных изготовителями – от 12 мес. (драже обогащенное для детей серии «Пантошка», «Доктор Конфеткин» [170], ягодные драже в ассортименте [169], медовые драже «Jerelia» [167], витаминизированное драже для детей серии «Алтайский мараленок» [168]) до 18 мес. (драже для детей «Сибирячок») [170].

В процессе хранения с интервалом в 3 месяца в соответствии с МУК 4.2.1847-04 [58] определяли органолептические, физико-химические и микробиологические показатели.

За время хранения установлено, что органолептические и физико-химические показатели драже не изменяются. Заметно снижение содержания витамина С (рисунок 5.1).



Известно, что витамин С – лабильное соединение, несмотря на то, что в драже явно присутствует синергетическая поддержка – фенольные вещества плодов и ягод подавляют действие факторов, способствующих разрушению.

Обобщая полученные в процессе хранения результаты по органолептическим, физико-химическим, токсикологическим и микробиологическим показателям, содержанию витаминов драже витаминизированного «Виталайф» «Облепешка» возможно определить срок хранения: при выбранном стандартном режиме хранения – $t=18\pm3$ °С и ОВВ не более 75 % – драже в герметичной упаковке могут храниться в течение 12 месяцев с даты производства.

Таким образом, 20 драже способны удовлетворять 8,8 % суточной потребности в витамине С, что позволяет рекомендовать их в качестве общеукрепляющего средства для всех категорий потребителей.

Относительно не большое содержание витаминов в продукте позволяет не предъявлять ограничений потребителей, в том числе детей, к потреблению витаминизированного драже. Исключается риск передозировки витаминами даже в случае неограниченного потребления.

По результатам проведенных исследований драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка» разработаны ТУ 9122-124-05783969-16 «Драже витаминизированное «Виталайф» (Приложение К), в которых установлены регламентируемые показатели качества для проведения комплексной товароведной оценки драже (табл. 5.7, 5.8, 5.9, 5.10).

Таблица 5.7 – Регламентируемые органолептические и физико-химические показатели качества драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка»

Показатель	Значение
Форма	Правильная, шарообразная
Внешний вид	Поверхность ровная, гладкая, блестящая
Цвет	Желто-оранжевый
Вкус	Приятный, в меру сладкий, с легкой кислинкой, выраженный плодовой (облепиховый), без постороннего привкуса
Аромат	Выраженный, плодовой, приятный, свежий
Количество слипшихся и деформированных деталей, % (по массе)	0
Количество драже в 1 кг, шт.	2000
Влажность, %	3,5±0,1
Кислотность, градусы, не менее	4,0±0,1

Таблица 5.8 – Регламентируемое содержание витаминов в драже витаминизированном «Виталайф «Облепешка»

Наименование	Содержание в 100 г драже*, не менее
Витамин А, МЕ	3314±15%
Витамина D ₃ , МЕ	294±15%
Витамина Е, мг	4,9±15%
Витамина В ₁ , мг	1,13±15%
Витамина В ₂ , мг	1,14±15%
Витамина В ₆ , мг	1,2±15%
Витамина В ₁₂ , мг	2,4±15%
Витамина С, мг	61,2±15%
Никотинамида, мг	13,2±15%

Фолиевой кислоты, мг	0,4±15%
Пантотеновой кислоты, мг	4,998±15%
Биотина в 100, мг	0,146±15%
*Содержание витаминов гарантируется технологическими закладками, кроме витамина С	

Таблица 5.9 – Регламентируемые микробиологические показатели драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка»

Показатель	Регламентированное значение
КМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта	не более $2,5 \times 10^3$
Масса продукта, г, в которой не допускаются:	
БГКП (полиформы) в 0,1 г	Не допускается
Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, в 25 г	Не допускается
Дрожжи, КОЕ/1 г	не более 50,0
Плесени, КОЕ/1 г	не более 50,0

Таблица 5.10 – Регламентируемые показатели безопасности драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка»

Наименование вещества (элемента)		Допустимый уровень содержания, мг/кг, не более
Токсичные элементы	Свинец	1,0
	Мышьяк	1,0
	Кадмий	0,1
	Ртуть	0,01
Пестициды	ГХКЦ (α , β , γ -изомеры)	0,005
	ДДТ и его метаболиты	0,005

На производственной площадке ЗАО «Алтайвитамины» (г. Бийск Алтайского края) ведется серийное производство драже витаминизированного «Виталайф «Облепишка».

5.2 Разработка рецептуры и товароведная оценка драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Как было сказано в главе 1 настоящей работы, облепиховое масло – естественный концентрат каротинов, токоферолов, филлохинонов, фитостеролов, полиненасыщенных жирных кислот (ω -3, ω -6 и ω -7), фосфолипидов и других биологически активных веществ и витаминов, готовый лечебный препарат,

обладающий разносторонними терапевтическими свойствами и лишенный вредных побочных действий.

По результатам проведенных исследований и мониторинга рынка функциональных кондитерских изделий на основе масла облепихи предлагается инновационный продукт – драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло», основу которого составляет мягкая желатиновая капсула, заполненная однородной маслянистой жидкостью из концентрата масла облепихового с добавлением подсолнечного рафинированного масла, с накаткой из сахарной пудры. Преимущество нового драже состоит в том, что далеко не всем потребителям, особенно детям, нравится безвкусная капсула. На наш взгляд, разработанное драже – новый способ доставки в организм человека незаменимых жирных кислот облепихового масла.

Драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло» предназначено для реализации через торговую сеть для всех групп населения, обладает высокими вкусовыми свойствами и содержит в своем составе незаменимые жирные кислоты облепихового масла.

Ингредиенты для рецептуры драже подбирались на основе анализа химического концентрата масла облепихи, а также на основе введения необходимых для данной формы продукта технологических добавок с учетом предъявляемых требований по качеству и безопасности. Для базовой рецептуры драже мягкого были дополнительно подготовлены два варианта с различным содержанием основных вкусовых компонентов (концентрата масла облепихи и сахара), вкусовые качества трех вариантов рецептур драже оценены по 30-ти балловой шкале [72] (таблица 5.11).

Таблица 5.11 – Рецептурное соотношение для производства драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Наименование компонента	Содержание компонента, г/100 г			НД, регламентирующий качество и безопасность компонента
	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3	

1	2	3	4	5
Концентрат масла облепихи	8,200	8,932	9,932	ТУ 9141-122-05783969-2016
Масло подсолнечное рафинированное	32,800	31,800	35,300	ГОСТ Р 52465-2005
Комплексная пищевая добавка «Роноксан А»	0,008	0,008	0,008	СГР №RU.77.99.26.009.Е.016099.05.11 от 24.05.2011, спецификация производителя «DSMNutritionalProd- uctsEuropeLtd», Швейцария

Продолжение таблицы 5.11

1	2	3	4	5
Желатин	4,560	4,560	4,560	ГОСТ 11293-89
Глицерин дистиллированный	1,440	1,440	1,440	СГР № 50.99.01.009.У.000912.09.09 от 21.09.2009, спецификация производителя «GlaconchemieGmbH», ФРГ; ГОСТ 6824-96
Вода очищенная	1,760	1,760	1,760	ФС 42-2619-97
Сахар	51,232	49,500	47,000	ГОСТ 21-94
Масса одного драже, г	0,5	0,5	0,5	

Разработан технологический процесс производства драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло», состоящий из этапов, приведенных на схеме рисунка 5.2. Маслянистую смесь готовят из концентрата облепихового масла путем разбавления его подсолнечным маслом и купажированием (усреднением) его в купажной емкости.

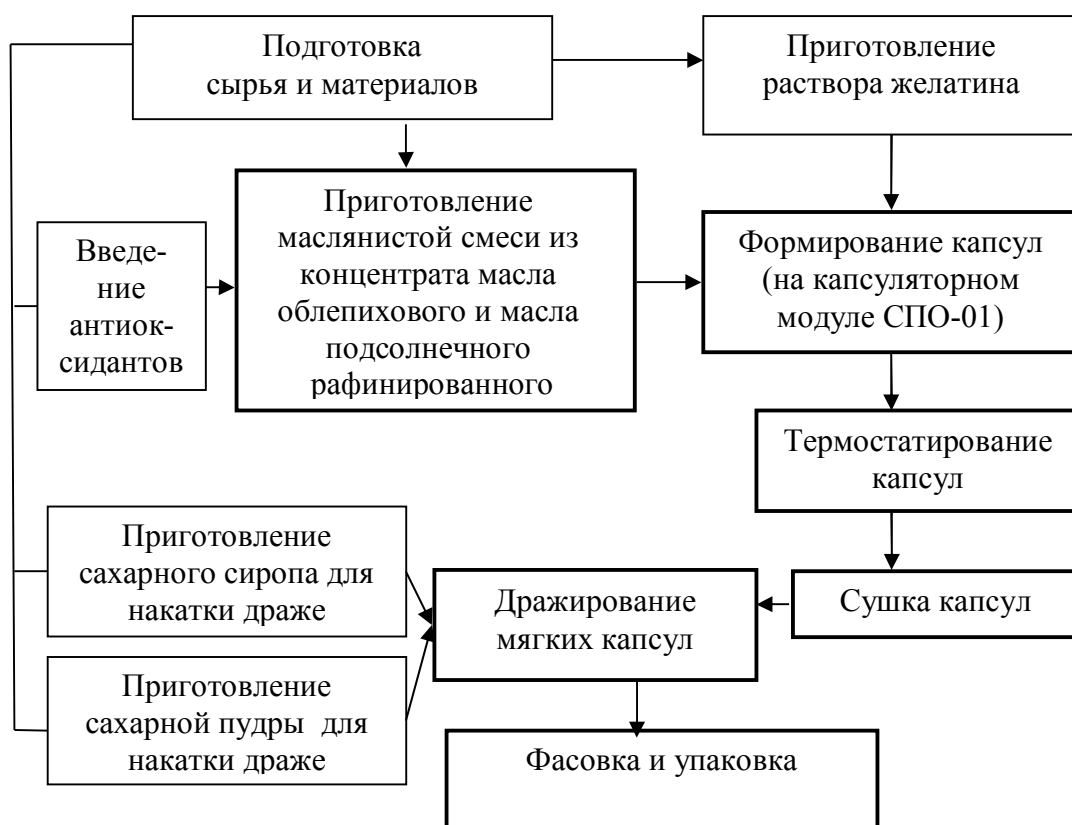


Рисунок 5.2 – Блок-схема производства драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

На первом этапе проведена оценка органолептических показателей (таблица 5.12).

Таблица 5.12 – Органолептические показатели драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Показатель	Контрольный образец	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
Форма	Правильная, сферическая			
Внешний вид	Драже мягкие заполненные однородной сиропобразной маслянистой жидкостью	Драже мягкие с равномерной обсыпкой сахарной пудрой, заполненные однородной сиропобразной маслянистой жидкостью		
Цвет	Желто-оранжевый	Белый		
Вкус	Выраженный	Приятный, в	Выраженный	Выраженный

	плодовый (облепиховый), достаточно кислый, послевкусие непродолжительно е, кислое, без постороннего привкуса	меру сладкий, с легкой кислинкой, выраженный плодовый (облепиховый), без постороннего привкуса	плодовый (облепиховый), излишне кислый, послевкусие продолжительно е, кислое, без постороннего привкуса	плодовый (облепиховый), достаточно кислый, послевкусие непродолжительно е, кислое, без постороннего привкуса
Аромат	Слабовыраженный плодовый	Выраженный, плодовый, приятный, свежий		
Дегустационный балл	23,5	30	26	24
Количество слипшихся и деформированных деталей, % (по массе)	0			
Количество драже в 1 кг, шт.	2000			

По данным таблицы 5.12 видно, что полученные опытные образцы по своим органолептическим показателям соответствуют требованиям ГОСТ 7060-79. Для базовой рецептуры отобрано наиболее оптимальное сочетание компонентов (вариант 1), дающее наиболее развитый и гармоничный вкус – приятный, в меру сладкий, с легкой кислинкой, выраженный плодовый (облепиховый), без постороннего привкуса. Отмечено положительное влияние сахарной оболочки в драже мягком в капсулах «Облепиховое масло» на органолептические показатели качества. Общий балл дегустационной оценки качества драже мягкого «Облепиховое масло» выше на 8,5 баллов в сравнении с контрольным образцом.

Из физико-химических показателей, регламентируемых данным ГОСТ определяли лишь часть, так как разработанное драже в зависимости от типа корпуса относится к ликерному [25] (таблица 5.13).

Таблица 5.13 – Физико-химические показатели драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Показатель	Регламентирована	Действительное значение
------------	------------------	-------------------------

	нное значение (по ГОСТ 7060-90)	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
Влажность, %	5,0–9,0	7,8±0,1	7,6±0,1	7,6±0,1
Кислотность, градусы, не менее	Не регламентируется	4,2±0,1	4,4±0,1	4,6±0,1

Так как разработанное драже мягкое позиционируется как функциональный продукт, в образцах драже определено содержание ряда биологически активных веществ (таблица 5.14).

Таблица 5.14 – Содержание биологически активных веществ в драже мягком в капсулах «Облепиховое масло»

Наименование	Содержание в 100 г драже		
	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
Содержание триолеина, %	17,46± 1,13	17,38± 1,13	17,40± 1,13
Содержание трилинолеина, %	60,89±1,03	60,29±1,03	60,05±1,03
Содержание трипальмитолеина, %	8,99± 0,05	8,76± 0,05	8,60± 0,05
Содержание каротиноидов (в пересчете на β-каротин), мг%	69,00± 2,60	68,50± 2,60	68,20± 2,60

Как видно из данных таблицы 5.14, содержание глицеридов и каротиноидов в драже различается несущественно, тогда, как по вкусовым качествам лучшим признаны драже, приготовленные по рецептуре варианта 1.

По микробиологическим показателям и показателям безопасности драже должно соответствовать требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [97], что подтверждено в ходе исследования (таблицы 5.15 и 5.16).

Таблица 5.15 – Микробиологические показатели драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Показатель	Регламентированное значение (по ТР ТС 021/2011)	Действительное значение
КМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта	не более $2,5 \times 10^3$	Менее 10,0

Масса продукта, г, в которой не допускаются:		
БГКП (полиформы) в 0,1 г	Не допускается	Не обнаружены
Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, в 25 г	Не допускается	Не обнаружены
Дрожжи, КОЕ/1 г	не более 50,0	Менее 10
Плесени, КОЕ/1 г	не более 50,0	Менее 10

Таблица 5.16 – Показатели безопасности драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Наименование вещества (элемента)		Допустимый уровень содержания (по ТР ТС 021/2011), мг/кг, не более	Действительное значение
Токсичные элементы	Свинец	1,0	0,09
	Мышьяк	1,0	Менее 0,02
	Кадмий	0,1	0,003
	Ртуть	0,01	Менее 0,002
Пестициды	ГХКЦ (α , β , γ -изомеры)	0,005	Не обнаружено
	ДДТ и его метаболиты	0,005	Не обнаружено

Срок годности осуществляли, контролируя заложенные на хранение образцы драже в соответствии с основными положениями МУК 4.2.1847-04 [58]. Продукцию хранили 14 мес. при температуре 18 ± 3 °С и ОВВ 70 ± 5 %, в потребительской, герметично укупоренной таре – банки для пищевых продуктов из полиэтилена с завинчивающейся крышкой массой $50,0 \pm 3,0$ г. В процессе хранения с интервалом в 3 мес. определяли органолептические, физико-химические и микробиологические показатели.

За период хранения установлено, что органолептические и физико-химические показатели драже не изменяются. Незначительные изменения претерпели показатели физиологической ценности (рисунок 5.3): снизилось содержание каротиноидов (в пересчете на β -каротин) до 55,40 мг%, что составляет порядка 80 % от исходного; содержание глицеридов практически не изменилось, что свидетельствует об оптимальных условиях удаления экстрагента из концентрата облепихового масла, обеспечивающие получение продукта с увеличенным сроком годности.

Обобщая полученные в процессе хранения результаты по органолептическим, физико-химическим, токсикологическим и

микробиологическим показателям, содержанию биологически активных веществ драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло» возможно определить срок хранения: при выбранном стандартном режиме хранения – $t=18\pm3$ °С и ОВВ не более 75, % – драже в герметичной стерильной упаковке могут храниться в течение 12 мес. с даты производства.

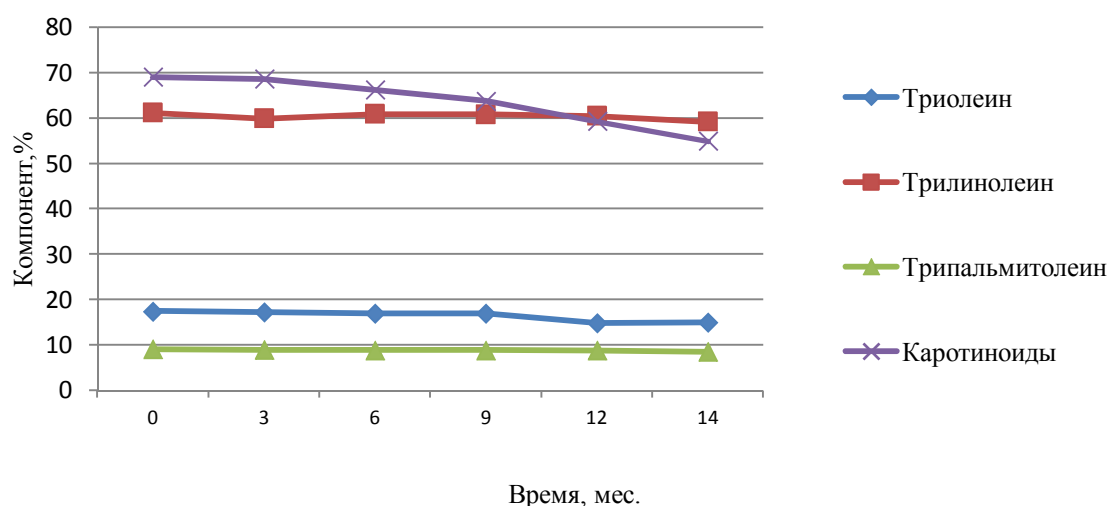


Рисунок 5.3 – Динамика снижения содержания триолеина, триолеина, трипальмитолеина и каротиноидов в мягком драже «Облепишка»

Таким образом, 6 драже способны удовлетворять 30% суточной потребности в каротиноидах, что позволяет рекомендовать их в качестве общеукрепляющего средства для всех категорий потребителей.

По результатам проведенных исследований драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло» разработаны ТУ 9122-125-05783969-03 (Приложение Л), в которых установлены регламентируемые показатели качества для проведения комплексной товароведной оценки драже (таблицы 5.17, 5.18, 5.19 и 5.20).

Таблица 5.17 – Регламентируемые органолептические и физико-химические показатели качества драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Показатель	Значение
------------	----------

Форма	Правильная, сферическая
Внешний вид	Драже мягкие с равномерной обсыпкой сахарной пудрой, заполненные однородной сиропообразной маслянистой жидкостью
Цвет	Белый
Вкус	Приятный, в меру сладкий, с легкой кислинкой, выраженный плодовый (облепиховый), без постороннего привкуса
Аромат	Выраженный, плодовый, приятный, свежий
Количество слипшихся и деформированных деталей, % (по массе)	0
Количество драже в 1 кг, шт.	2000
Влажность, %	5,0–9,0

Таблица 5.18 – Содержание биологически активных веществ в драже мягком в капсулах «Облепиховое масло»

Наименование	Содержание в 100 г драже
Содержание триолеина, %	15±15%
Содержание трилинолеина, %	55±15%
Содержание трипальмитолеина, %	8±15%
Содержание каротиноидов (в пересчете на β-каротин), мг%	60±15%

Таблица 5.19 – Регламентируемые микробиологические показатели драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Показатель	Регламентированное значение
КМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта	не более $2,5 \times 10^3$
Масса продукта, г, в которой не допускаются:	
БГКП (полиформы) в 0,1 г	Не допускается
Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, в 25 г	Не допускается
Дрожжи, КОЕ/1 г	не более 50,0
Плесени, КОЕ/1 г	не более 50,0

Таблица 5.20 – Регламентируемые показатели безопасности драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло»

Наименование вещества (элемента)	Допустимый уровень содержания, мг/кг, не более
----------------------------------	--

Токсичные элементы	Свинец	1,0
	Мышьяк	1,0
	Кадмий	0,1
	Ртуть	0,01
Пестициды	ГХКЦ (α , β , γ -изомеры)	0,005
	ДДТ и его метаболиты	0,005

На производственной площадке ЗАО «Алтайвитамины» (г. Бийск Алтайского края) ведется серийное производство драже витаминизированного «Виталайф «Облепешка».

Таким образом, в заключительной части работы на основании результатов проведенных исследований на основе концентрата масла облепихи разработаны драже функциональной направленности – мягкое в капсулах «Облепиховое масло» и витаминизированное «Виталайф «Облепешка», которые внедрены на ЗАО «Алтайвитамины», продолжается их серийный выпуск, что позволит расширить ассортимент выпускаемой продукции на региональном уровне, которая будет отличаться более низкой ценой по сравнению с изделиями импортного производства, за счет снижения транспортных расходов и применения местных сырьевых ресурсов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе анализа нормативно-патентной информации, литературных данных, теоретических и экспериментальных исследований установлена возможность применения методов ДСК и ГЖХ для изучения глицеридного состава концентрата облепихового масла. Разработана технология получения концентрата облепихового масла с улучшенными качественными характеристиками и рецептуры драже на его основе.

Итоги выполненных исследований представлены в следующих выводах:

1. Определено, что кривые плавления ДСК индивидуальны, и их можно использовать в установлении происхождения облепихового масла концентрата. Создана библиотека спектров ДСК облепихового масла концентрата. Показано, что обширный эндоэффект в области 0 °С является характерной особенностью облепихового масла.

Разработан экспресс-метод ГЖХ для определения состава триглицеридов в концентрате облепихового масла. Определены условия хроматографирования: температура инжектора 370 °С, скорость потока по колонке 0,75 см³/мин, колонка капиллярная SE-30 «Витохром-М», длина 15 м, внутренний диаметр 0,3 мм, детектор пламенно-ионизационный, температура детектора 380 °С, поток воздуха 400 см³/мин, поток водорода 40 см³/мин, поток газа носителя 30 см³/ мин, газ-носитель – гелий.

2. Установлено влияние технологии выделения и состава исходного сырья на глицеридный состав концентрата облепихового масла. По содержанию трипальмитолеина методы выделения располагаются в порядке: ферментативный гидролиз (41,06 %) > центрифугирование (36,67%) > экстракция (31,28 %); источники сырья располагаются в следующем порядке: кожура (32,9 %) > жом (29,1 %) > листья (18,8 %) > семена (8,58 %) > почки (1,5 %). Установлено, что применение азота на стадии удаления экстрагента не привносит изменений в глицеридный состав концентрата облепихового масла, в отличие от воздуха. При

применении воздуха происходит снижение содержания трипальмитина и трипальмитолеина с 47% до 45 % и с 36% до 34% соответственно.

3. Разработана технология производства облепихового масла концентрата с использованием азота на стадии удаления экстрагента. Определены параметры технологического процесса: температура концентрата облепихового масла от 40 до 45 °С; скорость подачи азота 1,7 дм³/мин; объем концентрата облепихового масла 40 дм³; время операции - 1,5 ч. Установлено, что замена воздуха на азот способствует увеличению срока хранения концентрата облепихового масла с 12 мес. до 18 мес.

4. Разработаны рецептуры и технология драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка» и драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло». Дана товароведная характеристика новых кондитерских изделий, определены регламентируемые значения показателей качества, условия и срок хранения - 12 мес.

5. Разработана нормативно-техническая документация на производство облепихового масла концентрата «Экстра» с улучшенными качественными характеристиками (ТУ, ТИ) и драже витаминизированное «Виталайф «Облепишка» и драже мягкого в капсулах «Облепиховое масло». Проведена промышленная апробация и внедрение в производство разработанной продукции на базе предприятия ЗАО «Алтайвитамины».

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГХ – газовая хроматография

ГЖХ – газо-жидкостная хроматография

ОФ ВЭЖХ – обращено-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография

ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия

СФХ – сверхкритическая флюидная хроматография

ЯМР-спектметрия – спектметрия ядерного магнитного резонанса

ЕСН – эквивалентные углеродные числа

ИК – инфракрасный

УФ – ультрафиолетовый

НЖК – насыщенные жирные кислоты

МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

ЖК – жирные кислоты

Обозначения радикалов жирных кислот:

П – пальмитиновая (C16:0),

По – пальмитолеиновая (9-цис-гексадеценовой, C16:1^{Δ9}),

С – стеариновая (C18:0),

О – олеиновая (9-цис-октадеценовая, C18:1^{Δ9}),

В – вакценовая (11-цис-октадекаеновой, C18:1^{Δ11})

Л – линолевая (9,12-цис-октадекадиеновая, C18:2^{Δ9,12}),

Лн – линоленовая (C18:3).

НД – нормативный документ

СОП – стандартная операционная процедура

ЦГФ – цех готовых форм

Др – драже

ОВВ – относительная влажность воздуха

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. с. 1024833 А, СССР. Способ определения триглицеридов природных и модифицированных жиров / О.В. Озерина, В.В. Чупин, А.П. Нечаев, Н.С. Гейко, Г.А. Серебренникова, Р.П. Евстигнеева; Московский ордена Трудового Красного Знамени технологический институт пищевой промышленности и Московский ордена Трудового Красного Знамени институт тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова; заявл. 26.11.1981; опубл. 23.06.1983.
2. А.с. 1786064 СССР, МКИ С 11 В 1/10. Способ получения облепихового масла. / А.Н. Потапов, С.С. Павлов, А.Т. Еремин; Кемеровский технологический институт пищевой промышленности; заявл. 22.10.1990; опубл. 07.01.1993.
3. Аверьянова, Е.В. Функциональные пищевые ингредиенты растительного происхождения /Е.В. Аверьянова, М.Н. Школьников // Сборник статей по материалам научно-практической конференции «Биотехнология и общество в XXI веке» Международного биотехнологического симпозиума «Bio-Asia – 2015», 15–18 сентября 2015 г., г. Барнаул. – Изд-во Алт. ун-та, 2015. – С. 98–101.
4. Алтымашев, Т.Н. Биологическая ценность плодов облепихи крушиновидной / Т.Н. Алтымашев, В.Л. Горелкин, Р.С. Султанеев // Облепиха крушиновидная – Фрунзе, 1983. – С.23–25.
5. Бобченко, В.И. Влияние продуктов переработки плодов облепихи на формирование свойств молочной основы мороженого / В.И. Бобченко, Л.А. Текутьева, Ж.П. Павлова, О.М. Сон, Ю.К. Боцко // Известия вузов. Пищевая технология. – 2012. – №5–6. – С. 60–62.
6. Буданина, Л.А. Определение состава спредов сливочного масла пальмовым методами термического анализа / Л.Н. Буданина, А.Л. Верещагин, Н.В. Бычин // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – Т. 38. № 3. – С. 133–138.
7. Вандышев, В.В. Триацилглицерины липидной фракции плодов двух видов растений рода эхинацея / В.В. Вандышев, Е.Ю. Бабаева, Г.Г. Дроздовская // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Том 43, № 3. – С. 32–34.

8. Варламов, Г.П. Уборка и переработка облепихи / Г.П. Варламов, А.М. Долгошеев, А.М. Мазур, А.Г. Варламов.– М.:ИНФРА-М, 2001. – 288 с.
9. Вафула А.М. Разработка элементов технологии выращивания папайи для получения здорового посадочного материала и экстрактов с биопестицидными свойствами для защиты ее от вредных организмов: дисс. ... канд. с.-х. наук: 06.01.07, 06.01.01 / Вафула Арнольд Мамати. – М., 2015.– 111 с.
10. Верещагин, А.Л. Идентификация кедрового, льняного и оливкового масел методами дифференциальной сканирующей калориметрии и термомеханического анализа / А.Л. Верещагин, Н.В. Бычин // Техника и технология пищевых производств. – 2014. – № 2. – С. 118–121.
11. Восканян, К.Г. Разработка и совершенствование технологий, обеспечивающих создание витаминизированных салатных масел для лечебно-профилактических диет: автореф. дисс. ... канд. техн. наук: 05.18.06. / Восканян Каринэ Гарниковна. – Москва, 2013. – 27 с.
12. Галиева, А.И. Разработка и исследование потребительских свойств обогащенного драже: автореф. дисс.... канд. техн. наук: 05.18.15./ Галиева Альмира Ильгизовна. – Кемерово, 2014. – 16 с.
13. Голуб, О.В. Формирование качественных характеристик сброженного напитка на основе меда и растительного сырья / О. В. Голуб, Г. П. Чекрыга, О. К. Мотовилов // Пиво и напитки. – 2015. – № 5. – С. 26–30.
14. Голубев, В.Н. Комплексная переработка облепихи с помощью мембран / В.Н. Голубев, А.А. Колесник, Т.К. Исмаилов // Пищевая промышленность. – 1990. – №11. – С.32–35.
15. Горемыкина, Н.В. Сравнительный анализ композиций облепихового и подсолнечного масел / Н.В. Горемыкина, А.Л. Верещагин, Н.В. Бычин, Ю.А. Кошелев // Техника и технология пищевых производств. – 2013. – № 2.– С. 116–120.
16. Горемыкина, Н.В. Сравнение триглицеридного состава облепихового масла Алтайского края методом дифференциальной сканирующей калориметрии / Н.В.

Горемыкина, А.Л. Верещагин, Н.В. Бычин, Ю.А. Кошелев // Техника и технология пищевых производств. –2015.– № 2 (37). – С. 104–109.

17. Горемыкина, Н.В. Состав глицеридов облепихового масла Алтайского края / Н.В. Горемыкина, А.Л. Верещагин, Ю.А. Кошелев, Н.С. Першин, А.С. Петров // Химия растительного сырья. 2014. №4. С. 197–201.

18. ГОСТ 26593-85 Масла растительные. Метод измерения перекисного числа – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1999. – с 89–93.

19. ГОСТ 30418-96. Масла растительные. Метод определения жирнокислотного состава. – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1998. – С. 111–116.

20. ГОСТ 31665-2012 Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. – Москва: Стандартинформ, 2013. – 7 с.

21. ГОСТ 5897-90 Изделия кондитерские. Методы определения органолептических показателей качества, размеров, массы нетто и составных частей. – М.: Стандартинформ, 2012. – С. 11–16.

22. ГОСТ 5898-87 Изделия кондитерские. Методы определения кислотности и щелочности. – М.: Стандартинформ, 2012. – С. 18–26.

23. ГОСТ 5900-73 Изделия кондитерские. Методы определения влаги и сухих веществ. – М.: Стандартинформ, 2012. – С. 47–54.

24. ГОСТ 7047-55 Витамины А, С, Д, В₁, В₂ и РР. Отбор проб, методы определения витаминов и испытания качества витаминных препаратов. – М.: Издательство стандартов, 1994. – 48 с.

25. ГОСТ 7060-79 Драже. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2004. – С. 51–58.

26. ГОСТ 8502-93 Дифторхлорметан (хладон-22). Технические условия. – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2003. – 10 с.

27. ГОСТ 9293-74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия. – Москва: Стандартинформ, 2007. – 16 с.

28. ГОСТ Р ИСО 22000-2007. Системы менеджмента безопасности пищевой продукции. Требования к организациям, участвующим в цепи создания пищевой промышленности. – М.: Стандартинформ, 2007. – 36 с.
29. Государственная Фармакопея СССР. Одиннадцатое издание. Выпуск 1. Общие методы анализа. / Ю.Г. Бобков, Э.А. Бабаян и др. – М.: «Медицина», 1987. – 335 с.
30. Губаненко, Г.А. Компонентный состав эфирного масла *Thymus serpyllum* L./ Г.А. Губаненко //Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: VІVсерос. конф. с межд. участ. – Барнаул, 2014. – С. 214-216.
31. Губаненко, Г.А. Органолептическая оценка качества отделочного полуфабриката с растительными экстрактами / Г.А. Губаненко, Е.Н. Заика// Общество, наука и инновации: междунар. науч.-практ. конф. . – Уфа, 2013. – С.30-32.
32. Губаненко, Г.А. Перспективы совершенствования производства мучных кондитерских изделий с использованием нетрадиционного сырья /Г.А. Губаненко, Е.Н. Заика, Е.А. Речкина // Приоритетные направления развития науки и образования: междунар. науч.- прак. конф. – Чебоксары, 2014. – С.221-222.
33. Губаненко, Г.А. Разработка и оценка качества кекса с пектином сосны обыкновенной /Г.А. Губаненко, Е.Н. Заика, Е.А. Речкина // Пищевые инновации и биотехнологии: междунар. науч. конф. . – Кемерово, 2014. – С.242-244.
34. Гурьянов, Ю.Г. Инновационные продукты здорового питания на основе местного сырья (сахаристые кондитерские изделия и БАД с использованием пантогематогена) / Ю.Г. Гурьянов, В.М. Позняковский // Пищевая и перерабатывающая промышленность реферативный журнал.
35. Гурьянов, Ю.Г. Оценка потребительских предпочтений к новым продуктам функционального назначения / Ю.Г. Гурьянов, Е.Ю. Лобач, И.Ю. Резниченко // Ползуновский вестник. – 2012. – № 2/2. – С. 187–190.

36. Дейнека, В.И. Инкерментный подход при определении состава триглицеридов / В.И. Дейнека, В.М. Староверов, Г.М. Фофанов, Л.Н. Балятинская // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Том 36, № 7. – С. 50–53.
37. Дейнека, В.И. Метод относительного анализа удерживания: обращено-фазовая ВЭЖХ триглицеридов / В.И.Дейнека, Л.А.Дейнека, А.В.Туртыгин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8. Вып.3. – С. 465–477.
38. Дейнека, В.И. Хроматографические методы в исследовании биологически активных веществ растительных материалов: автореф. дисс.... докт. хим. наук: 05.11.11. / Дейнека Виктор Иванович. – Белгород, 2008. – 48 с.
39. Дейнека, В.И. Кедровое масло (масло семян *Pinus Sibirica*): анализ и установление фальсификации методом ВЭЖХ / В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека // Химия растительного сырья. – 2006. – №3. – С. 21–26.
40. Дейнека, В.И. Обращенно-фазовая ВЭЖХ в анализе растительных масел. Метод контроля подлинности и установления фальсификации облепихового масла / В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, В.Н. Сорокопудов // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Том 43, № 1. – С. 33–36.
41. Егорова, Е.Ю. Продукты функционального назначения и БАД к пище на основе дикорастущего сырья / Е.Ю. Егорова, М.Н. Школьников // Пищевая промышленность. – 2007. – № 11. – С. 12-14.
42. Жмырко, Т.Г. Липиды семян *Niprophaë ghamnoides* / Т.Г. Жмырко, Я.В. Рашкес, А.И. Глушенкова // Новое в биологии, химии и фармакологии облепихи / под ред. В.А. Пантеговой – Новосибирск, 1991. – С. 85–90.
43. Заворохина, Н.В. Методология разработки безалкогольных напитков социальной направленности / Н. В. Заворохина, Л. А. Кокорева, Д. В. Левина // Продовольственный рынок: состояние, перспективы, угрозы: Сборник статей Международной научно-практической конференции (18–19 ноября 2015 г.) – Екатеринбург, 2015. – С. 20–28.
44. Заворохина, Н.В. Применение дескрипторно-профильного метода дегустационного анализа при моделировании рецептур безалкогольных напитков с заданными потребительскими свойствами: диссертация ... кандидата

- технических наук : 05.18.15 / Заворохина Наталия Валерьевна; [Место защиты: Кемер. технол. ин-т пищевой пром.]. – Кемерово, 2009. – 153 с.
45. Зверев, Л.В. Оценка содержания олеиновой кислоты в семенах подсолнечника методом ядерной магнитной релаксации / Л.В. Зверев, Т.Е. Джиоев, С.М. Прудников, В.Т. Панюшкин // Известия вузов. Пищевая технология. – 2000. – № 2–3. – С. 85–86.
46. Зинченко, А.А. Новый подход к стандартизации препарата «Масло облепиховое» и препаратов на основе концентрата масла облепихового / А.А. Зинченко, В.Н. Бузов // Фармаком. – 2003. – № 4. – С. 20–27.
47. Казанцев, В.О. Технология получения витаминных продуктов из плодов облепихи / В.О. Казанцев // Вопросы витаминологии. – Барнаул, 1959. – 291с.
48. Клюев, Н.А. Современные методы масс-спектрометрического анализа органических соединений / Н.А. Клюев, Е.С. Бродский // Российский химический журнал (Журнал Российского химического общества им. Д.И. Менделеева). – 2002. – т. XLVI, № 4. – С. 57–63.
49. Комарова, Н.А. Исследование и разработка технологии мороженого с использованием продуктов переработки дикорастущих и культивируемых ягод Сибири: дисс. ... канд. техн. наук: 05.18.04. / Комарова Наталья Алексеевна. – Кемерово, 2002. – 193 с.
50. Кошелев, Ю.А. Прессовое масло плодов облепихи / Ю.А. Кошелев, Л.Д. Агеева // Биология, химия и фармакология облепихи / под ред. В.А. Пантеговой. – Новосибирск, 1983. – С.85–88.
51. Кузнецова, Л.Н. Исследование пальмового масла методом ДСК / Л.Н.Кузнецова, В.Ю.Папченко, П.Ф.Петик, И.Н.Демидов // Одеська національна академія харчових технологій. Наукові праці.– Випуск 46, том 2. – С. 204–207.
52. Кузнецова, Э. И. Распределение необычных жирных кислот в триацилглицеринах околоплодника созревающих плодов облепихи / Э. И. Кузнецова, В. П. Пчёлкин, В. Д. Цыдендамбаев, А. Г. Верещагин // Физиология растений. – 2010. – Т.57, № 6. – С. 911–917.

53. Лосева, А.И. Разработка и исследование технологии сливочно-растительного спреда с антиоксидантными свойствами: автореф. дисс. ... канд. техн. наук: 05.18.04. / Лосева Анна Ивановна. – Кемерово, 2006. – 19 с.
54. Майорова, А.Ф. Термоаналитические методы исследования / А.Ф. Майорова // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 10. – С. 50–54.
55. Миронов, В.А. Метод получения и биологическая активность экстракционного облепихового масла / В.А. Миронов, Г.С. Васильев, В.С. Матросов, Б.В. Уша, Л.Д. Музыченко, И.И. Касьяненко, М.А. Фельдштейн // Биология, химия и фармакология облепихи / под ред. В.А. Пантеговой – Новосибирск, 1983. – С.93–98.
56. Миронов, В.А. Химический состав и биологическая активность липидных экстрактов из компонентов плодов облепихи Армении / В.А. Миронов, Т.Н. Гусева-Донская, Ю.Ю. Дубровина, Г.А. Осипов, Е.А. Шабанова, А.А. Никулин, Н.Ш. Амиров, И.Г. Трубицина // Новое в биологии, химии и фармакологии облепихи / под ред. В.А. Пантеговой. – Новосибирск, 1991. – С. 114–121.
57. Морозова, Е.В. Перспективы использования эфирного масла *PAEONIA ANOMALA* /Е.В. Морозова, Г.А. Губаненко // Торгово-экономические проблемы регионального бизнес-пространства: междунар. науч.-практ. конф. – Челябинск, 2005. – С. 203-206.
58. МУК 4.2.1847-04. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов. Методические указания (утверждено Главным государственным санитарным врачом РФ 06.03.2004). – М., 2004. – 18 с.
59. ОФС 42-0037-07 Плотность / Государственная фармакопея Российской Федерации. Двенадцатое издание / М.: «Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»», 2008. – С. 38–40.
60. ОФС 42-0040-07 Рефрактометрия / Государственная фармакопея Российской Федерации. Двенадцатое издание / М.: «Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»», 2008. – С. 52–53.

61. ОФС 42-0067-07 Микробиологическая чистота / Государственная фармакопея Российской Федерации. Двенадцатое издание / М.: «Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»», 2008. – С. 160–213.
62. Очерк химии природных соединений / А.А. Семенов. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 2000. – 664 с.
63. Паренаго, О.О. Сверхкритическая флюидная хроматография в фармации / О.О. Паренаго, О.И. Покровский // Фармацевтические технологии и упаковка. – 2010. – № 5. – С. 42–46.
64. Пат. 2092070, Россия. Салатное масло. / В.В. Ключкин, Н.В. Лобаев, Ф.К. Мартыненко, А.И. Скоблилов; ВНИИ жиров; заявл. 23.10.1995; опубл. 10.10.1997.
65. Пат. 2176268, Россия. Способ производства облепихового масла. / Терещук Л.В.; Павлов С.С; Кемеровский технологический институт пищевой промышленности; заявл. 29.04.1999; опубл. 27.11.2001.
66. Пат. 2224013, Россия, МПК 7 С 11 В 1/10. Способ получения облепихового масла. / патентообладатель и автор Рожков И. С. ; заявл. 19.10.2001; опубл. 20.02.2004.
67. Пат. 2385924, Россия. Способ производства уксуса. / авторы и патентообладатели Б.А. Чернуха, Н.И. Кулешова, Е.С. Баташов, В.И. Илларионова, Ю.А. Кошелев, Г.В. Галкина; заявл. 22.09.2008; опубл. 27.11.2001.
68. Пат. 2391019, Россия. Растительно-жировой спред. / Ф.Н. Семакин, Е.Л. Беленко; Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет пищевых производств» Министерства образования Российской Федерации; заявл. 09.06.2009; опубл. 10.06.2010.
69. Пат. 2495100, Россия. Способ получения облепихового вина. /: В.П. Севодин, К.В. Севодина, Е.Д. Рожнов; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова» (АлтГТУ); заявл. 27.11.2012; опубл. 10.10.2013.

70. Пат. KZ 28180 Печенье «Солнечное». / Ф.Х. Смоликова, Б.К. Асенова, К.Ж. Амирханов, Л.А. Саввина, Ж.Б. Асиржанова, Г.Т. Кажыбаева, Г.Н. Нурымхан, А.М. Бекбергенова; Республиканское хозяйственное предприятие на праве хозяйственного ведения: «Семипалатинский государственный университет им. Шакарима» Министерство образования и науки Республики Казахстан; заявл. 02.07.2012; опубл. 17.03.2014.
71. Пат. 2566057, Россия. Майонез «Обогащенный». / И.Н. Жигжитова, А.Ц. Доржиева, А.М. Золотарева; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления».
72. Позняковский, В.М. Кондитерские изделия: практическое и учебное пособие / В.М. Позняковский, И.Ю. Резниченко, И.Ю. Гусева. – Кемерово: КемТИПП, 1999. – 51 с.
73. Позняковский, В.М. Пищевые и биологически активные добавки: характеристика, применение, контроль: Монография / В.М. Позняковский, Ю.Г. Гурьянов, В.В. Бебенин. – 3-е изд., испр. и доп. – Кемерово: Кузбассвуиздат, 2011. – 275 с.
74. Покровский, О.И. Анализ триацетилглицеридного состава плазмы крови с помощью сверхкритической флюидной хроматографии / О.И. Покровский, В.Н.Титов, О.О.Паренаго, В.В.Лунин // Материалы Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» Краснодар, 26 мая – 31 мая 2013 г., Краснодар, 2013. – С. 103.
75. Покровский, О.И. Ультрапроизводительная сверхкритическая флюидная хроматография – новое слово в аналитической работе / О.И. Покровский // Фармацевтические технологии и упаковка. – 2012. – № 2. – С. 50–52.
76. ПР 05783969-110-2012. Промышленный регламент на производство облепихового масла концентрата, субстанции. / Введ. 2012-03-28. Бийск, 2012. – 89 с.
77. Промышленные фторорганические продукты: справочное издание / Б.Н. Максимов. – Л.: Химия, 1990. – 464 с.

78. Прудников, С.М. Научно-практическое обоснование способов идентификации и оценки качества масличных семян и продуктов их переработки на основе метода ядерной магнитной релаксации: автореф. ... докт. техн. наук: 05.18.06, 05.18.15 / Прудников Сергей Михайлович. – Краснодар, 2003. – 55 с.
79. Пурецкий, А.А. Разработка майонезного соуса с добавлением облепихового масла / А.А. Пурецкий, С.Н. Бутова, С.Ю. Солдатова // Вестник НВГУ. – 2015. – № 3. – С. 61–66.
80. Рабаданов, Г.А. Жирное масло из семян культурных сортов облепихи, как источник ценных триацилглицеридов / Г.А.Рабаданов, А.М.Мусаев, Э.Д.Гашимова, Б.А.Алхасов, Ф.И.Исламова, Г.А.Садыкова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – № 11 (42) Часть 3, Декабрь. – С. 65–68.
81. Рабина О.А., Степанова Е.Н. Идентификация и обнаружение фальсификации растительных масел методом хроматографии // Научно-теоретический журнал Вестник СибУПК, 2014. № 1 (8). С. 98-101.
82. Распоряжение Правительства РФ от 25 октября 2010 г. N 1873-р Об утверждении Основ государственной политики РФ в области здорового питания населения на период до 2020 г. // Российская газета – Федеральный выпуск №5328 (249). 3 ноября 2010.
83. Рахимов, И.Ф. Экспериментальное токсикологическое исследование экстракционного облепихового масла и влияние на функции пищеварения / И.Ф. Рахимов, Л.Д. Лебедева, Н.Д. Хасаншина, Н.В. Глыбина, К.К. Хайдаров, А.Б. Загорная, А.Б. Зегельман, Н.И. Климова В.А. Андронов, С.А. Рославцева // Биология химия и фармакология облепихи / под ред. В.А. Пантеговой – Новосибирск, 1983. – С.109–120.
84. Ребезов, М.Б. Технология и рецептура печенья овсяного «Солнечное» / М.Б. Ребезов, К.Ж. Амирханов, Б.К. Асенова, Ф.Х. Смоликова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 7 (105). – С. 94–97.

85. Рудаков, О.Б. Развитие метода интерпретации хроматограмм при идентификации растительных масел / О.Б. Рудаков // Химия растительного сырья. – 2001. – №4. – С. 77–82.
86. Рудаков, О.Б. Хроматографическое определение натуральных и искусственных каротиноидов в пищевых продуктах / О.Б. Рудаков, Л.И. Перикова, В.М. Болотов, Г.А. Сташина // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2004. – № 1. – С. 78–84.
87. Рукавишников, А.М. Реквием по хладагенту R-22 / А.М. Рукавишников // Холодильная Техника. – 2012. – №6. – С. 7–9.
88. Сверхкритическая флюидная хроматография с насадочными колонками (По материалам 4-й Международной конференции по сверхкритической хроматографии, Стокгольм, Швеция, сентябрь 2010) / Пер. О.И. Покровский // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2011. – Том 6. № 1. – С. 69–83.
89. Скаковский, Е.Д. Применение спектроскопии ЯМР для анализа состава масел семян хвойных растений / Е.Д. Скаковский, Л.Ю. Тычинская, О.А. Гайдукевич, А.Н. Кулакова, Н.М. Петлицкая, А.Ю. Ключев, С.В. Рыков // Структура и динамика молекулярных систем. – 2007. – Вып. 1. – С. 549–552.
90. Скуридин, Г.М. Новая технология комплексной переработки облепихи / Г.М. Скуридин, Т.П. Кукина. // Новое в биологии, химии и фармакологии облепихи / под ред. В.А. Пантеговой – Новосибирск, 1991. – С.99–102.
91. Степанова Е.Н, Рабина О.А., Морозов С.В. Динамика показателей качества и безопасности новых видов растительных масложировых продуктов при хранении // Техника и технология пищевых производств, 2011. № 22 . С. 37-41.
92. Сторожок, Н.М. Исследование совместного антиоксидантного действия β -каротина и витамина А с α -токоферолом / Н.М. Сторожок, И.В. Кутузова // Химико-фармацевтический журнал. – 1995. – № 12. – С. 37–41.
93. Табаторович А.Н., Степанова Е.Н. Разработка и оценка качества тыквенного мармелада, обогащенного аскорбиновой кислотой // Техника и технология пищевых производств, 2012. № 27 . С. 57-94.

94. Табаторович А.Н., Худякова О.Д., Степанова Е.Н., Бакайтис Е.Н. Разработка и оценка качества обогащенного мармелада для детского питания // Кондитерское производство.- 2015.- № 6. – С. 13-16.
95. Терещук, Л.В. Витаминно-антиоксидантная композиция для новых видов комбинированных масел / Л.В. Терещук // Известия вузов. Пищевая технология. – 2001. – №5–6. – С. 42–44.
96. Терещук, Л.В. Разработка и исследование технологии производства мороженого с продуктами переработки облепихи: автореф. дисс. ... канд. техн. наук: 05.18.04. / Терещук Любовь Васильевна. – Кемерово, 1998. – 19 с.
97. Технический регламент Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»: утв. 09.12.2011 г. решением комиссии Таможенного союза. – М.: 2011, – 242 с.
98. Типсина, Н.Н. Разработка новых видов кондитерских изделий повышенной пищевой ценности с использованием полуфабрикатов из сибирских сортов облепихи / Н.Н. Типсина, Н.В. Цугленок, В.В. Матюшев. – Красноярск: Изд-во Красн. гос. аграр. ун-та, 2014. – 114 с.
99. ТУ 9164-067-05783969-06. Плоды облепихи сухие, отжатые. / Введ. 2007-03-23. Бийск, 2007. – 13 с.
100. Туртыгин, А.В. Определение моноацетил-диацилглицеролов маселсемян растений семейства *Celastráceae* / А.В. Туртыгин, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, Н.А. Трусков, М.Ю. Третьяков // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16. № 1. – С. 91–95.
101. Украинцева И.И. Разработка способов оценки качества и идентификации семян льна на основе метода ядерно-магнитной релаксации: автореф. ... канд. техн. наук: 05.18.06, 05.18.15 / Украинцева Ирина Ивановна. – Краснодар, 2004. – 22 с.
102. ФСП РN002959/01-301210 Масло облепиховое концентрат. / Введ. 2010-12-30. Бийск, 2010. – 28 с.

103. Хасанов, В.В. Состав жирных кислот и стероидов растительных масел / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, К.А. Дычко, Т.Т. Куряева // Химия растительного сырья. – 2006. – №3. – С. 27–31.
104. Хлебников, В.А. Определение триглицеридного и жирнокислотного состава растительных масел / В.А. Хлебников, В.Н. Сорокопудов, С.В. Рыбалко, В.И. Дейнека // Научные ведомости. – 2006. – № 3 (23), Вып. 4. – С. 60–64.
105. Чугунова О.В. Теоретическое обоснование и практическое использование дескрипторно-профильного метода при разработке продуктов с заданными потребительскими свойствами: диссертация ... доктора технических наук: 05.18.15 / Чугунова Ольга Викторовна; [Место защиты: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности]. – Кемерово, 2012. – 396 с.
106. Чугунова, О.В. Исследование качества сладких блюд, содержащих порошок из какао-бобов / О. В. Чугунова, Л. А. Кокорева, Н. В. Заворохина // Кондитерское производство. – 2015. – № 3. – С. 14–16.
107. Чугунова, О.В. Перспективы использования какао-бобов при производстве шоколадного сиропа / О. В. Чугунова, Л. А. Кокорева, Н. В. Заворохина // Пиво и напитки. – 2014. – № 6. – С. 62–64.
108. Шафтан, Э.А. Сравнительное изучение хладонного и углекислотного экстрактов из воздушно-сухого жема *Hippophaë rhamnoides* L. Кавказского и сибирского происхождения / Э.А. Шафтан, А.С. Михайлова, А.В. Пехов, Н.В. Дюбанькова. // Растительные ресурсы. – 1986. – Т.22, Вып.1. – С. 60–66.
109. Шейченко, В.И.¹Н ЯМР анализ триглицеридного состава жирных масел / В.И. Шейченко // Химия, технология, медицина. Международная конференция, посвященная 75-летию образования Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений. Под общей редакцией академика РАМН и РАСХН, заслуженного деятеля науки РФ, профессора В.А. Быкова, 2006. – С. 257–259.
110. Школьникова, М.Н. Разработка рецептур функциональных сиропов на основе растительного сырья для профилактики потери остроты зрения / М.Н.

Школьникова, Л.А. Маюрникова, Ю.Г. Гурьянов, Р.А. Зайнуллин, И.Р. Фахретдинов // Пиво и напитки. – 2010. – № 5 – С. 56-59.

111. Школьникова, М.Н. Товароведно-технологическая характеристика растительного сырья, используемого в производстве бальзамов и БАД: учебное пособие. Рекомендовано СибРУМЦ / М.Н. Школьникова, Е.Ю. Егорова. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2009. – 160 с.

112. Эйдельмант, А.С. Облепиха в медицине, косметике, кулинарии / А.С. Эйдельмант. – М.: КРОН-ПРЕСС, 1998. – 376 с.

113. Эпштейн, Н.А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) / Н.А. Эпштейн // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – Том 38, № 4.– С. 40–56.

114. Avdai, Ch. Processing of buckthorn berries for juice and oil extraction / Ch. Avdai, G. Chimed-Ochir // Seabuckthorn (*Hippophae L.*): a multipurpose wonder plant Vol. 1. / V. Singh et al. eds. – New Delhi: Indus publishing company, 2003. – P. 466–470.

115. Bertran, E. Near infrared spectrometry and pattern recognition as screening methods for the authentication of virgin olive oils of very close geographical origins /E. Bertran, M. Blanco, J. Coello, H. Iturriaga, S. MasPOCH, I. Montoliu // Journal of Near Infrared Spectroscopy. – 2000. – Volume 8 Issue 1. – P. 45–52.

116. Beveridge, T.H.J. Chemical composition and some physical properties / In: T.S.C. Li, T.H.J. Beveridge (with contributions by B.D. Oomah, W.R. Schroeder and E. Small). Sea Buckthorn (*Hippophaë Rhamnoides L.*): Production and Utilization. – NRS Research Press, Ottawa, Ontario, 2003. – 133 p.

117. Cerretani, L. Application of partial least square regression to differential scanning-calorimetry data for fatty acid quantitation in olive oil / L. Cerretani, R.M. Maggio, C. Barnaba, T.G. Toschi, E. Chiavaro // Food Chemistry. – 2011. – No 127.– P. 1899–1904.

118. D'Alonzo, R.P. Analysis of processed soy oil by gas chromatography / R.P. D'Alonzo, W.J Kozarek, H.W.Wharton // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1981, March. – Volume 58, Issue 3. – P. 215–227.

119. Dayrit, F.M. Analysis of monoglycerides, diglycerides, sterols, and free fatty acids in coconut (*Cocos nucifera* L.) oil by ^{31}P NMR spectroscopy / F.M. Dayrit, O.E. Buenafe, E.T. Chainani, I.M. de Vera // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2008 Jul 23. – 56(14). – P. 5765–5769.
120. Differential Scanning Calorimetry Applications in Fat and Oil Technology / edited by Emma Chiavaro. – CRC Press Taylor & Francis Group, 2014.
121. Eder, K. Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters / K. Eder // *Journal of Chromatography. B, Biomedical Applications*. – 1995. – No 671(1–2). – P. 113–131.
122. Ershova, E. Biochemical characteristics of Altai seabuckthorn varieties / E. Ershova // *Seabuckthorn (Hippophae L.): a multipurpose wonder plant Vol. IV: Emerging trends in research and technologies* / editor-in-chief, V. Singh; associate editors, B. Yang... [et al.]. – New Delhi: Daya publishing house a division of Astral International Pvt. Ltd., 2014. – P. 297–307.
123. Fahimdanesh, M. Check fraud sesame (*Sesamus indicum*) oil using differential scanning calorimetry (DSC) analysis / M. Fahimdanesh, M.E. Bahrami, M. Zargani // *International journal of plant, animal and environmental sciences*. – April-June-2014. – V. 4, Issue 2. – P. 554–560.
124. Galtier, O. Comparison of PLS1-DA, PLS2-DA and SIMCA for classification by origin of crude petroleum oils by MIR and virgin olive oils by NIR for different spectral regions / O. Galtier, O. Abbas, Y. Le Dréau, C. Rebufa, J. Kister, J. Artaud, N. Dupuy // *Vibrational Spectroscopy*. – 2011 – Volume: 55. Issue: 1. – P. 132–140.
125. Galtier, O. Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra / O. Galtier, N. Dupuy, Y. Le Dréau, D. Ollivier, C. Pinatel, J. Kister, J. Artaud // *Analytica Chimica Acta*. – August 2007. – No 595. – P. 136–144.
126. George, S.D.St. Influence of Harvest Time on the Quality of Oil-Based Compounds in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *sinensis*) Seed and Fruit / S.D.St. George, S. Cenkowski // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2007. – No 55. – P. 8054–8061.

127. Grob, K. Triglyceride analysis with glass capillary gas chromatography / K. Grob, H.P. Neukom, R. Battaglia // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1980, Sept. – Volume 57, Issue 9. – P. 282–286.
128. Gromadzka, J. Trends in Edible Vegetable Oils Analysis. Part A. Determination of Different Components of Edible Oils – a Review / J. Gromadzka, W. Wardencki // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. – 2011. – Vol. 61, No. 1. – P. 33–43.
129. Ilyasoglu, H. Determination of Seasonal Changes in Olive Oil by Using Differential Scanning Calorimetry Heating Thermograms / H. Ilyasoglu, B. Ozcelik // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2011. – No 88. – P. 907–913.
130. Jafari, M. Detection of Adulteration in Iranian Olive Oils Using Instrumental (GC, NMR, DSC) Methods / M. Jafari, M. Kadivar, J. Keramat // Journal of the American Oil Chemists' Society February. – 2009. – Volume 86, Issue 2. – P. 103–110.
131. Kallio, H. Triacylglycerols, Glycerophospholipids, Tocopherols, and Tocotrienols in Berries and Seeds of Two Subspecies (ssp. *sinensis* and *mongolica*) of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) / H. Kallio, B. Yang, P. Peippo, R. Tahvonen, R. Pan // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2002. – No 50. – P. 3004–3009.
132. Korovina, M.A. Biochemical variations in seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) growing in different regions of CIS States / M.A. Korovina, V.A. Fefelov // Seabuckthorn (*Hippophae* L.): a multipurpose wonder plant Vol. 2. / editor-in-chief, V. Singh. – New Delhi: Daya publishing house, 2006. – P. 108–132.
133. Kuksis, A. Gas–liquid chromatographic fractionation of natural triglyceride mixtures by carbon number / A. Kuksis, M.J. McCarthy // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. – 1962. – V. 40 (No 5). – P. 679–686.
134. Kuksis, A. Lipid class and molecular species interrelationships among plasma lipoproteins of normolipemic subjects / A. Kuksis, J.J. Myher, K. Geher, W.C. Breckenridge, G.J. Jones, J.A. Little // Journal of Chromatography A. – 1981, Jun 12. – Volume 224, Issue 1. – P. 1–23.
135. Maggio, R.M. A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils / R.M. Maggio, L. Cerretani, E. Chiavaro, T.S. Kaufman, A. Bendini // Food Control. – 2010. – No 21. – P. 890–895.

136. Manninen, P. Method for Characterization of Triacylglycerols and Fat-Soluble Vitamins in Edible Oils and Fats by Supercritical Fluid Chromatography / P. Manninen, P. Laakso, H. Kallio // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1995. – Vol. 72, no. 9. – P. 1001–1008.
137. Metin, S. Crystallization of fats and oils / S. Metin, R.W. Hartel // Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th Ed. V.1 / Ed. by F. Shahidi. – John Wiley & Sons, Inc., 2005. – P. 45–76.
138. Monseigny, A. Analyse chromatographique quantitative des triglycerides sur colonne capillaire de verre / A. Monseigny, P.V. Vigneron, M. Levacq, I. Zvoboda // Revue Francaise des Corps Gras. – 1979. – No 29. – P. 109–120.
139. Mörsel, J-T. Quality parameters of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) oil / J-T. Mörsel, K. Heilscher, C. Mörsel // Seabuckthorn (*Hippophae L.*): a multipurpose wonder plant Vol. 2. / editor-in-chief, V. Singh. – New Delhi: Daya publishing house, 2006. – P. 337–341.
140. Munkhbayar, D. Enzymatic technology for Seabuckthorn oil extraction and its biochemical analysis / D. Munkhbayar, J. Ariuntungalag, G. Delgersuuri, D. Badamkhand // Mongolian Journal of Chemistry. – 2014. – No 15 (41). – P. 62–65.
141. Patent CN 1207920 A Composite sea-buckthorn oil capsule.
142. Patent US 20130099403 A1 Semen cassiae soft capsule for reducing fat and losing weight and preparation method thereof. Author: Jianzhong Ma.
143. Pchelkin, V.P. Distribution of unusual fatty acids in triacylglycerol oil pericarp of seabuckthorn / V.P. Pchelkin, E.I. Kuznetsov, V.D. Tsydendambaev, A.G. Vereshchagin // Russian Journal of Plant Physiology. – 2006. – 53 (3). – P. 346–354.
144. Petrakis, P.V. Geographical characterization of Greek virgin olive oils (cv. Koroneiki) using ¹H and ³¹P NMR fingerprinting with canonical discriminant analysis and classification binary trees. / P.V. Petrakis, A. Agiomyrgianaki, S. Christophoridou, A. Spyros, P. Dais // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2008. – Vol. 56, No. 9. – P. 3200–3207.

145. Podlaha, O. A system for identification of triglycerides in RP-HPLC chromatograms based on equivalent carbon numbers / O. Podlaha, B. Töregård // *Journal of high resolution chromatography*. – Oct. 1982. – Volume 5(Issue 10). – P. 553–558.
146. Ranjith, A. Integrated processing technology for seabuckthorn berries and chemical evaluation of the products / A. Ranjith, K.S. Kumar, V.V. Venugoplan, C. Arumughan // *Seabuckthorn (Hippophae L.): a multipurpose wonder plant Vol. 3.* / editor-in-chief, V. Singh. – New Delhi: Daya publishing house, 2008. – P. 448–455.
147. Rongsen, L. A comparative study on composition of seabuckthorn oil and other edible oils / L. Rongsen // *Seabuckthorn (Hippophae L.): a multipurpose wonder plant Vol. IV: Emerging trends in research and technologies* / editor-in-chief, Virendra Singh; associate editors, B. Yang... [et al.]. – New Delhi: Daya publishing house a division of Astral International Pvt. Ltd., 2014. – P. 258–261.
148. Sánchez-Rodríguez, M.I. New approaches in the chemometric analysis of infrared spectra of extra-virgin olive oils / M.I. Sánchez-Rodríguez, E.M. Sánchez-López, A. Marinas, J.M. Caridad, F.J. Urbano, J.M. Marinas // *SORT*. – July-December 2014. – No 38 (2). –P. 231–250.
149. Sato, K. Polymorphism in Fats and Oils / K. Sato, S, Ueno // *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6th Ed. V.1 / Ed. by F. Shahidi. – John Wiley & Sons, Inc., 2005. – P. 77–120.
150. Sea buckthorn: Monograph. / Yu.A. Koshelev, L.D. Ageeva, E.S. Batashov, V.P. Sevodin, E.D. Rozhnov, N.I. Kuleshova. – Biysk: Publishing house of Polzunov Altai State Technical, 2015. – 401 p.
151. Singh, V. Fatty acid composition of fruit pulp and seed oils of some high yielding forms of seabuckthorn in Indian Himalayas / V. Singh, R.Kr. Gupta, Sh. Tandon, R.C. Sawhney // *Seabuckthorn (Hippophae L.): a multipurpose wonder plant Vol. 3.* / editor-in-chief, V. Singh. – New Delhi: Daya publishing house, 2008. – P. 215–222.
152. Tan, C.P. / Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: Comparison of thermal properties and chemical composition / C.P. Tan, Y.B. Che Man // *Journal of the American Oil Chemists' Society*. – February 2000.– Volume 77, Issue 2.– P. 143–155.

153. Teleszko, M. Analysis of Lipophilic and Hydrophilic Bioactive Compounds Content in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Berries / M. Teleszko, A. Wojdyło, M. Rudzińska, J. Oszmiański, T. Golis // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2015. – No 63. – P. 4120–4129.
154. Tereshchuk, L.V. Aspects of production of functional emulsion foods / L.V. Tereshchuk, K.V. Starovoitova // *Foods and Raw Materials*. – 2013. – Vol. 1 (No. 2). – P. 67–75.
155. Tsydendambaev V.D. Changes in Triacylglycerol Composition during Ripening of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Seeds / V.D. Tsydendambaev, A.G. Vereshchagin // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2003. – No 51. – P. 1278–1283.
156. Tsydendambaev, V.D. Distribution of n-octadecenoic acids in triacylglycerols pericarp ripening fruits of sea buckthorn / V.D. Tsydendambaev, E.I. Kuznetsov, V.P. Pchelkin, A.G. Vereshchagin // *Doklady Biochemistry & Biophysics*. – Feb. 2011. – Vol. 436, Issue 1. – P. 121–124.
157. Vereshchagin, A.G. Dynamics of neutral lipids accumulation during ripening of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) fruits / A.G. Vereshchagin, V.D. Tsydendambaev // *Seabuckthorn (Hippophae L.): a multipurpose wonder plant* Vol. 3. / editor-in-chief, V. Singh. – New Delhi: Daya publishing house, 2008. – P. 223–227.
158. Vereshchagin, A.G. Effect of geographic origin of sea buckthorn on the triacylglycerol composition of its fruits / A.G. Vereshchagin, V.D. Tsydendambaev // *Bulletin of the Georgian national academy of sciences*. – 2010. – Vol. 4, no. 1. – P. 92–100.
159. Vereshchagin, A.G. Changes in Triacylglycerol Composition in Maturing Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Seeds / A.G. Vereshchagin, V.D. Tsydendambaev // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2003. – Vol. 50, No. 3. – P. 381–389.
160. Vlahov, G. ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy to check 1,3-random, 2-random pattern of fatty acid distribution in olive oil triacylglycerols / G. Vlahov // *Spectroscopy*. – 2005. – Volume 19, Issue 2. – P. 109–117.
161. Yang, B. Analysis of Triacylglycerols of Seed and Berries of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) of Different Origins by Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry / B. Yang, H. Kallio // *Lipids*. – 2006 Apr. – Vol. 41, no 4. – P. 381–392.

162. Yang, B. Fatty Acid Composition of Lipids in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Berries of Different Origins / B. Yang, H.P. Kallio // Journal of Agricultural and Food Chemistry.–2001.– No 49.– P. 1939–1947.
163. Yang, B. Lipophilic components of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds and berries / B. Yang, H. Kallio // Seabuckthorn (*Hippophae* L.): a multipurpose wonder plant Vol. 2. / editor-in-chief, V. Singh. – New Delhi: Daya publishing house, 2006. – P. 70–97.
164. Зинченко, А.А. Стандартизация каротинсодержащих препаратов "Масло облепиховое" и "Аекол" [Электронный ресурс] / А.А. Зинченко, Л.В. Кричковская, В.Н. Бузов // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармакология. – 2005. – №2. – С. 64–70. Режим доступа: <http://hdl.handle.net/> (дата обращения 21.01.2015).
165. Кох, Д.А. Использование сырой мякоти облепихи в производстве кондитерских изделий [Электронный ресурс] / Д.А. Кох // Проблемы современной аграрной науки: материалы международной заочной научной конференции. – Красноярск, 2013. – Режим доступа: <http://www.kgau.ru/> (дата обращения 18.12.2015).
166. Мирзоянц, П.М. Технологии получения облепихового масла и вещества, стимулирующего репаративные процессы [Электронный ресурс] / П.М. Мирзоянц // Armenianinnovationcenter. Режим доступа: <http://www.armic.am/> (дата обращения 27. 02.2016).
167. Официальный сайт компании «Jerelia»: / [Электронный ресурс] / <http://jerelia.com/> (дата обращения 15.03.2016).
168. Официальный сайт компании «Алтай-Селигор»: / [Электронный ресурс] / <http://www.altay-seligor.ru/> (дата обращения 15.03.2016).
169. Официальный сайт компании «Тенториум»: / [Электронный ресурс] / <http://apiteka-tentorium.ru/> (дата обращения 11.03.2016).
170. Официальный сайт компании «Юг»: / [Электронный ресурс] / <http://www.panto-yug.ru>. (дата обращения 09. 03.2016).
171. ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик [Электронный ресурс] / Государственная фармакопея Российской Федерации. Тринадцатое издание. /

Москва, 2015. – С 222–234. Режим доступа: <http://193.232.7.120/> (дата обращения 22.07.2015).

172. Паникоровский, Т.Л. Об использовании дифференциальной сканирующей калориметрии для исследования структурных особенностей органических и неорганических соединений [Электронный ресурс]/ Т.Л. Паникоровский, С.Н. Бритвин // РЦ РДМИ, СПбГУ, 2013. – 4 с. Режим доступа: <http://xrd.spbu.ru/> (дата обращения 17.05.2014).

173. Першакова, Т.В. Разработка способа товароведной идентификации высокоолеиновых подсолнечных масел на основе метода ядерно-магнитной релаксации [Электронный ресурс]/ Т.В. Першакова, Н.Н. Наумов // Научный журнал КубГАУ. – 2011. – №70(06). Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/> (дата обращения 03.04.2014).

174. Родионова, О.Е. Хемометрика в аналитической химии [Электронный ресурс] / О.Е. Родионова, А.Л. Померанцев // Режим доступа: <http://www.chemometrics.ru/> (дата обращения 16.08.2014).

175. Чиркина, Т.Ф. Перспективные растительные источники биологически активных веществ в Байкальском районе [Электронный ресурс] / Т.Ф. Чиркина, А.М. Золотарева, З.А. Пластинина // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – Выпуск № 1. Режим доступа <http://cyberleninka.ru/> (дата обращения 23.03.2015).

176. Christie, W.W. Structural analysis of triacylglycerols [Электронный ресурс]. / W.W.Christie. – August 8, 2011. Режим доступа: <http://lipidlibrary.aocs.org/> (дата обращения 18.02.2015)

177. Dulf, F.V. Fatty acids in berry lipids of six sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L., subspecies *carpatica*) cultivars grown in Romania [Электронный ресурс]/ F.V. Dulf // Chemistry Central Journal. – 2012.– No 6. – P. 106. Режим доступа: <http://journal.chemistrycentral.com/> (дата обращения 14.05.2015)

178. Heussen, P. Practical food applications of Differential Scanning Calorimetry (DSC) [Электронный ресурс]/ P. Heussen, P. Ye, K. Menard, P. Courtney. Perki-

- nElmer, Inc., 2001. – 4 p. Режим доступа: <https://www.perkinelmer.com/> (дата обращения 23.04.2015).
179. Indriyani, L. Research Article: Authentication of Avocado Oil (*Persea americana Mill.*) Using Differential Scanning Calorimetry and Multivariate Regression [Электронный ресурс] / L. Indriyani, A. Rohman, S. Riyanto // Asian Journal of Agricultural Research. – 2016. – 9 p. Режим доступа: <http://scialert.net/> (дата обращения 16.12.2015)
180. Li, T.S.C. Product development of sea buckthorn [Электронный ресурс] / In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA, 2002. – p. 393–398. Режим доступа: <https://hort.purdue.edu/> (дата обращения 16.12.2015).
181. Mignani, A.G. Optical Absorption Spectroscopy for Quality Assessment of Extra Virgin Olive Oil [Электронный ресурс] / A.G. Mignani, L. Ciaccheri, A.A. Mencaglia, A. Cimato // In book: Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions Source: InTech. – P. 47–62. Режим доступа: <https://www.researchgate.net/> (дата обращения 08.01.2016).
182. Moldoveanu, S.C. Profiling of lipids from fruit and seed extracts [Электронный ресурс] / S.C. Moldoveanu // Lipidomics: Sea Food, Marine Based Dietary Supplement, Fruit and Seed / Editor: Su Chen, 2012. – P. 73–123. Режим доступа: <http://www.trnres.com/> (дата обращения 05.08.2015).
183. Perri, E. Olive Oil Traceability [Электронный ресурс] / E. Perri, C. Benincasa, I. Muzzalupo // Olive Germplasm – The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy. – 2012. – P. 265–286. Режим доступа: <http://www.intechopen.com/> (дата обращения 23.01.2016).
184. Stashenko, E. Gas Chromatography-Mass Spectrometry [Электронный ресурс] / E. Stashenko, J.R. Martínez // Advances in Gas Chromatography, Dr Xinghua Guo (Ed.). – 2014. – P. 1–38. Режим доступа: <http://www.intechopen.com/> (дата обращения 14.02.2016).

185. Taylor, L.T. Modern Supercritical Fluid Chromatography [Электронныйресурс] /
L.T. Taylor // Published: Jul 29, 2008. Режим доступа:
<http://www.separationsnow.com/> (дата обращения 07.02.2016).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Методика определения состава триглицеридов облепихового масла концентрата

ЗАО «Алтайвитамины»		ОРИГИНАЛ
МЕТОДИКА		Лист 1 Из 25
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА ТРИГЛИЦЕРИДОВ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА КОНЦЕНТРАТА		Версия № 0
Подразделение: отдел контроля качества		Вводится впервые
Дата введения <i>Рн66 15.03.2016г</i>	Действительно до замены версии	М-ОКК.Ан-Мс-615 Копия №

1 Общие положения

1.1 Назначение

Описать методику контроля качества «Масло облепиховое концентрат»

1.2 Область применения

Данная методика действительна для ОКК, ЦЗЛ и лаборатории ЦПЛС.

1.3 Сокращения и определения

Сп – спецификация.

М – методика.

Пр – протокол.

ФСП – фармакопейная статья предприятия.

ООК – отдел обеспечения качества.

ОКК – отдел контроля качества.

ЦПЛС – цех по переработке лекарственного сырья.

ЦЗЛ – центральная заводская лаборатория.

ОКК.Ан – отдел контроля качества. Аналитическая лаборатория.

Сб – субстанция.

СтП – стандарт предприятия.

ВМ – вспомогательные материалы.

Хр – химические реактивы.

Рс – раствор.

2 Персонал

Старший инженер-химик ОКК.

Инженер-химик ОКК.

Техник-химик ОКК.

Старший инженер-химик ЦЗЛ.

Инженер-химик ЦЗЛ.

Химик ЦЗЛ.

Сменный химик ОКК. ЦПЛС.

Химик ОКК. ЦПЛС.

3 Оборудование, инвентарь

Составил:	Согласовал:	Утвердил:
Долж. Руководитель службы качества	Долж. Руководитель центра по развитию, к.б.н.	Долж. Директор по развитию предприятия, к.т.н
Ф. И. О. Горемыкина Н.В.	Ф. И. О. Баташов Е.С.	Ф. И. О. Кулешова Н.И.
Подпись <i>[Signature]</i>	Подпись <i>[Signature]</i>	Подпись <i>[Signature]</i>
Дата <i>14.03.16</i>	Дата <i>14.03.16</i>	Дата <i>14.03.16</i>

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Протокол / отчет валидации методики «Определение состава триглицеридов облепихового масла концентрата».

ОРИГИНАЛ

ЗАО «Алтайвитамины»		Стр. 1
ПРОТОКОЛ/ОТЧЕТ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДИКИ		Из 17
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА ТРИГЛИЦЕРИДОВ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА КОНЦЕНТРАТА		Версия № 0
Подразделение: Отдел контроля качества		Вводится впервые
Дата введения <i>Рн 66 15.03.2016 г</i>	Действительно до замены версии	Копия №
		PV- М-ОКК.Ан-Мс-615

1 Содержание

Наименование раздела	№ страницы
2 Назначение	1
3 Методика анализа	2
4 Обязанности и ответственность	2
5 Оборудование, приборы и посуда	2
6 Реактивы и материалы	2
7 Срок выполнения	3
8 Общие требования	3
9 Выполнение анализов	6
9.1 Определение трипальмитина и трипальмитолеина	6
9.1.1 Стабильность растворов	7
9.1.2 Специфичность	8
9.1.3 Правильность (Точность)	9
9.1.4 Линейность	9
9.1.5 Прецизионность (Воспроизводимость)	9
9.1.5.1 Повторяемость	10
9.1.5.2 Межлабораторная воспроизводимость	12
10 Валидационное заключение	13
Приложение А. Набор хроматограмм, подтверждающих специфичность методики	14
Приложение Б. Паспорт на гексан (СТП ТУ СОМР 2-008-06), паспорта на стандартные образцы: моно-, ди-, и триглицериды (Kit)(Supelco кат. № MDT12-1KT), моно-, ди-, и триглицериды (Mix)(Supelco кат. № 1787-1 AMP)	15 16 17

2 Назначение

Протокол/отчет описывает программу валидационных испытаний, фактические результаты испытаний и валидационное заключение методов анализа в препарате «Облепиховое масло концентрат»

Валидация проводится на промышленных образцах препарата.

Составил	Согласовали	Утвердил
Долж. Руководитель службы качества	Долж. Руководитель центра по развитию, к.б.н.	Долж. Директор по развитию предприятия, к.т.н
Ф. И. О. Горемыкина Н.В.	Ф. И. О. Баташов Е.С.	Ф. И. О. Кулешова Н.И.
Подпись <i>[подпись]</i>	Подпись <i>[подпись]</i>	Подпись <i>[подпись]</i>
Дата <i>14.03.16</i>	Дата <i>14.03.16</i>	Дата <i>14.03.16</i>

Валидация разработанной методики определения глицеридов жирных кислот в концентрате облепихового масла

Валидация методики проводилась по следующим характеристикам: стабильность испытуемых растворов, специфичность, правильность, линейность, прецизионность. Поскольку в концентрате облепихового масла в большом количестве содержатся пальмитиновая и пальмитолеиновая кислоты, то в качестве исследуемых веществ в рамках валидации были выбраны трипальмитин и трипальмитолеин. Валидация методики количественного определения трипальмитина и трипальмитолеина проводилась по характеристикам: стабильность испытуемых растворов, специфичность, правильность, линейность, прецизионность.

1 Стабильность растворов

Определение проводилось одним химиком. Готовили испытуемый раствор по валидируемому методу, как описано в пункте 3.4.

Стабильность раствора оценивали путем сравнения содержания трипальмитина и трипальмитолеина в свежеприготовленном растворе и в течение 8 часов. Данные представлены в таблицах Б.1 и Б.2.

Критерий приемлемости: раствор можно считать стабильными, если $|100 - ST|$ не превышает 3%.

Таблица Б.1 – Стабильность растворов трипальмитина

Хранение (часы)	Трипальмитин, %	Содержание трипальмитина ST, %	$ 100 - ST $, % трипальмитина
Свежеприготовленный раствор	45,12	100,0	0,0
Через 2 часа	44,83	99,36	0,64
Через 4 часа	44,54	98,71	1,29
Через 6 часов	44,08	97,70	2,30
Через 8 часов	43,56	96,54	3,46

Таблица Б.2 – Стабильность растворов трипальмитолеина

Хранение (часы)	Трипальмитолеин, %	Содержание трипальмитолеина ST, %	100 – ST , % трипальмитолеина
Свежеприготовленный раствор	36,24	100,0	0,0
Через 2 часа	36,10	99,61	0,39
Через 4 часа	35,76	98,68	1,32
Через 6 часов	35,60	98,23	1,77
Через 8 часов	35,48	97,90	2,10

По данным таблиц Б.1 и Б.2 видно, что испытуемый раствор является стабильным в течение 6 часов, величина |100-ST| равная 2,30 % для трипальмитина, 1,77 % для трипальмитолеина, меньше 3%, что удовлетворяет критерию приемлемости.

2 Специфичность

Специфичность подтверждается набором хроматограмм:

- а) раствора «плацебо» (рисунок Б.1);
- б) модельной смеси (рисунок Б.2);
- в) испытуемого раствора (рисунок Б.3).

Устанавливали влияние раствора «плацебо» на результат определения. В качестве раствора «плацебо» использовался гексан. Анализировали раствор «плацебо» как раствор образца по валидируемому методу.

Модельную смесь готовили следующим образом: стандартные вещества (таблица Б.3) около 0,02 грастворяли в 5 см³ гексана; 0,2 мкл полученного раствора вкалывали в испаритель хроматографа.

Таблица Б.3– Состав раствора модельной смеси

Наименование компонента	Нормативная документация
Моно-, ди- и триглицериды (Kit)	Supelco кат. № MDT12-1KT
Моно-, ди- и триглицериды (Mix)	Supelco кат. № 1787-1 AMP
Гексан	СТП ТУ COMP 2-008-06

Критерий приемлемости: на хроматограмме раствора «плацебо» не должно быть пиков, времена удерживания которых совпадают с временами удерживания пиков трипальмитина и трипальмитолеина на хроматограмме испытуемого раствора и раствора модельной смеси. Коэффициент разделения пиков трипальмитина и трипальмитолеина (R_s) должен быть не менее 1,0.

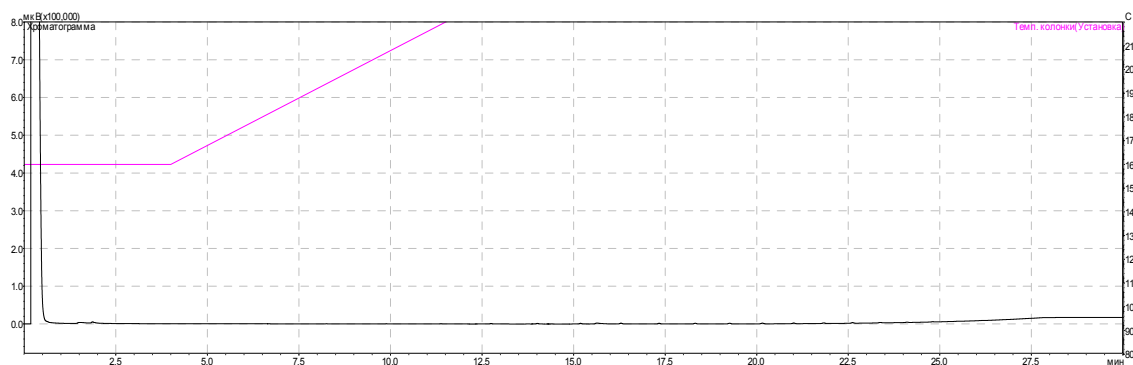


Рисунок Б.1 – Хроматограмма раствора «плацебо»

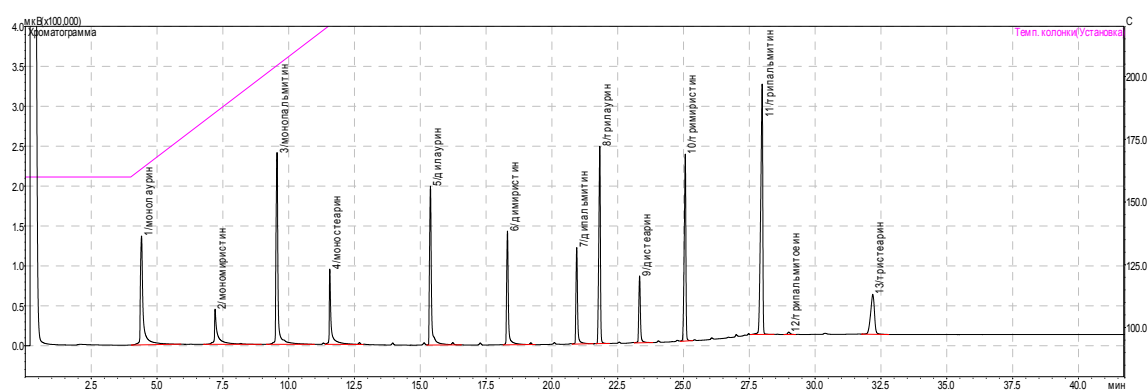


Рисунок Б.2 – Хроматограмма раствора модельной смеси

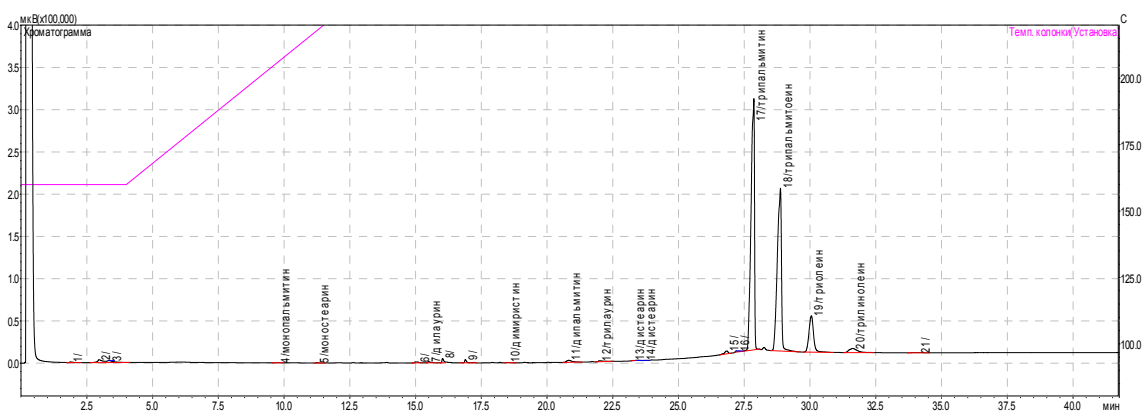


Рисунок Б.3 – Хроматограмма испытуемого раствора

На хроматограмме раствора «плацебо» (рисунок Б.1) отсутствуют пики, времена удерживания которых совпадают с временами удерживания пиков трипальмитина и трипальмитолеина на хроматограмме испытуемого раствора и раствора модельной смеси. На рисунках Б.2 и Б.3 видно, что пики определяемых веществ хорошо разделены между собой.

Времена удерживания трипальмитина и трипальмитолеина на хроматограмме испытуемого раствора сравнивали со средними значениями соответствующих времен удерживания стандартов этих веществ на хроматограмме раствора модельной смеси. Времена удерживания совпадали в пределах допустимой ошибки, которая не превышает $\pm 1\%$ для каждого из веществ. Времена удерживания приведены в таблице Б.4.

Таблица Б.4– Времена удерживания анализируемых веществ

Наименование вещества	tR для исследуемых объектов, мин	
	испытуемый раствор	раствор модельной смеси
Трипальмитин	27,98	27,99
Трипальмитолеин	29,04	29,00

Коэффициент разделения пиков трипальмитина и трипальмитолеина (R_s) равен 2,5, что удовлетворяет критерию приемлемости.

3 Правильность (точность)

Определяли количественное содержание трипальмитина и трипальмитолеина в растворах, содержащих 80 %, 100 % и 120 % трипальмитина и трипальмитолеина от номинального содержания, по три определения на каждом уровне.

Правильность выражали в виде открываемости R , %.

Определяли также ее доверительный интервал (ДР) при заданной вероятности ($P = 95\%$) и представляли точность методики в виде: $R_{cp} \pm \Delta R$.

Критерий приемлемости: средняя открываемость R (%) с учетом доверительного интервала должна находиться в пределах от 98,0% до 102,0%.

Результаты представлены в таблицах Б.5 и Б.6, каждое найденное значение является среднее значение трех параллельных определений. Определение доверительного интервала представлено в таблице Б.7.

Таблица Б.5 – Содержание трипальмитина в растворах модельных смесей

Содержание трипальмитина, %			R, %
% от номинального значения	введено	найдено	
80 %	36,20	36,36	100,44
100 %	45,00	44,87	99,71
120 %	54,30	54,49	100,35

$R_{cp} = 100,17 \%$

Таблица Б.6 – Содержание трипальмитолеина в растворах модельных смесей

Содержание трипальмитолеина, %			R, %
% от номинального значения	введено	найдено	
80 %	28,80	28,97	100,59
100 %	36,40	36,18	99,40
120 %	43,20	43,08	99,72

$R_{cp} = 99,90\%$

Таблица Б.7 – Доверительный интервал открываемости количественного определения содержания трипальмитина и трипальмитолеина ($P=95 \%$, $f=2$)

f	Вещество	$R_{cp}, \%$	s^2	s	P, %	t(P,f)	ΔR
2	трипальмитин	100,17	0,1585	0,3981	95	4,3	0,99
2	трипальмитолеин	99,90	0,3812	0,6174	95	4,3	1,53
Доверительный интервал по трипальмитину: $R_{cp} \pm \Delta R = 100,17 \pm 0,99$							
Доверительный интервал по трипальмитолеину: $R_{cp} \pm \Delta R = 99,90 \pm 1,53$							

Границы открываемости с учетом доверительного интервала находятся в пределах $99,18 \div 101,16 \%$ для трипальмитина, $98,37 \div 101,43$ для трипальмитолеина. Метод считается точным, так как средняя открываемость R (%) с учетом доверительного интервала находится в пределах от 98,0% до 102,0 %, что удовлетворяет критерию приемлемости.

4 Линейность

Определение линейности метода проводили на семи уровнях концентраций от теоретического содержания трипальмитина и трипальмитолеина. Линейность устанавливали путем разбавления стандартного основного раствора. Определяли количественное содержание трипальмитина и трипальмитолеина в растворах, содержащих 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120 %, 130% трипальмитина и трипальмитолеина от номинального содержания.

В качестве критерия линейности рассчитывали значение коэффициента корреляции r . Линейность визуально подтверждается графиком, показывающим отклонения расчетных значений $Y_i = a + bx_i$ от измеренных величин y_i в зависимости от концентраций x_i .

Критерий приемлемости: коэффициент корреляции должен быть не менее 0,99.[118]

Полученные результаты представлены в таблицах Б.8 и Б.9, каждое найденное значение является средним значением трех параллельных определений.

Таблица Б.8 – Приготовление растворов, содержащих 70, 80, 90, 100, 110, 120 и 130 % трипальмитина от номинального содержания

Содержание трипальмитина в растворе от номинального, %	x_i (введенное содержание трипальмитина), %	y_i (найденное содержание трипальмитина), %	Y_i (расчетное содержание трипальмитина), %
70,0	32,27	32,11	32,21
80,0	36,88	36,65	36,85
90,0	41,49	41,67	41,48
100,0	46,10	46,27	46,12
110,0	50,71	50,89	50,76
120,0	55,32	55,49	55,39
130,0	59,93	59,75	60,03

$$r = 0,99982 \quad a = - 0,245714 \quad b = 1,005733$$

Таблица Б.9 – Приготовление растворов, содержащих 70, 80, 90, 100, 110, 120 и 130 % трипальмитолеина от номинального содержания

Содержание трипальмитолеина в растворе от номинального, %	x_i (введенное содержание трипальмитолеина), %	y_i (найденное содержание трипальмитолеина), %	Y_i (расчетное содержание трипальмитолеина), %
70,0	25,34	25,21	25,23
80,0	28,96	28,71	28,88
90,0	32,58	32,69	32,53
100,0	36,20	36,32	36,18
110,0	39,82	39,72	39,83
120,0	43,44	43,59	43,47
130,0	47,06	47,00	47,12

$$r = 0,99984 \quad a = -0,308571 \quad b = 1,007893$$

Графики отклонений расчетных значений Y_i от полученных величин y_i содержания трипальмитина и трипальмитолеина представлены на рисунках Б.4 и Б.5.

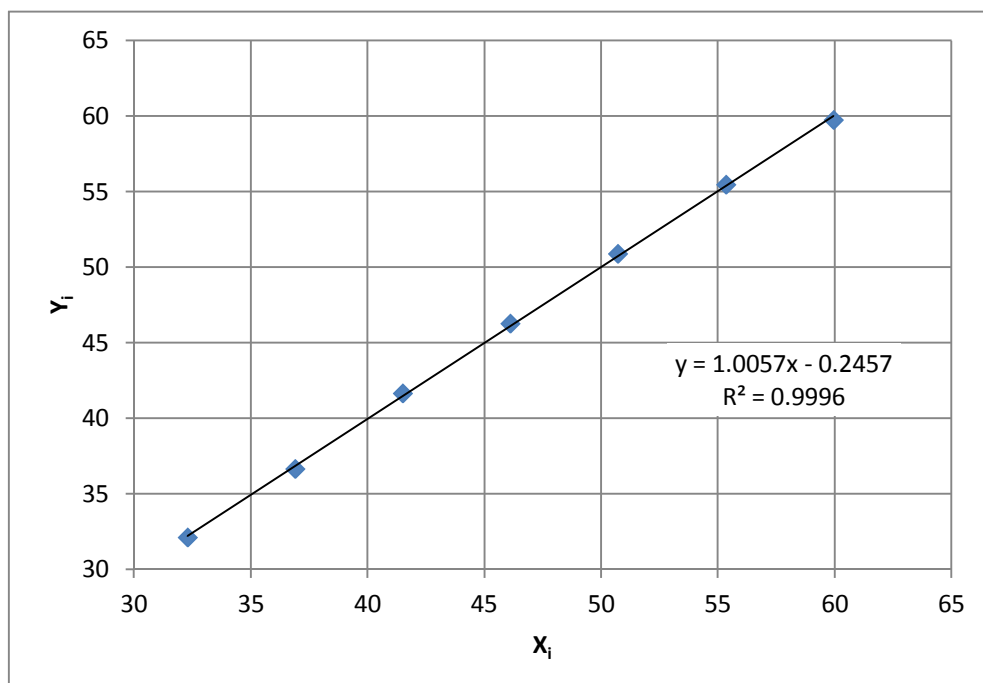


Рисунок Б.4 – График отклонений расчетных значений Y_i от полученных величин y_i содержания трипальмитина

Коэффициент корреляции для трипальмитина составляет 0,999186, что удовлетворяет критерию приемлемости. Приведен график зависимости расчетных значений Y_i от измеренных величин y_i : $a = -0,245714$; $b = 1,005733$.

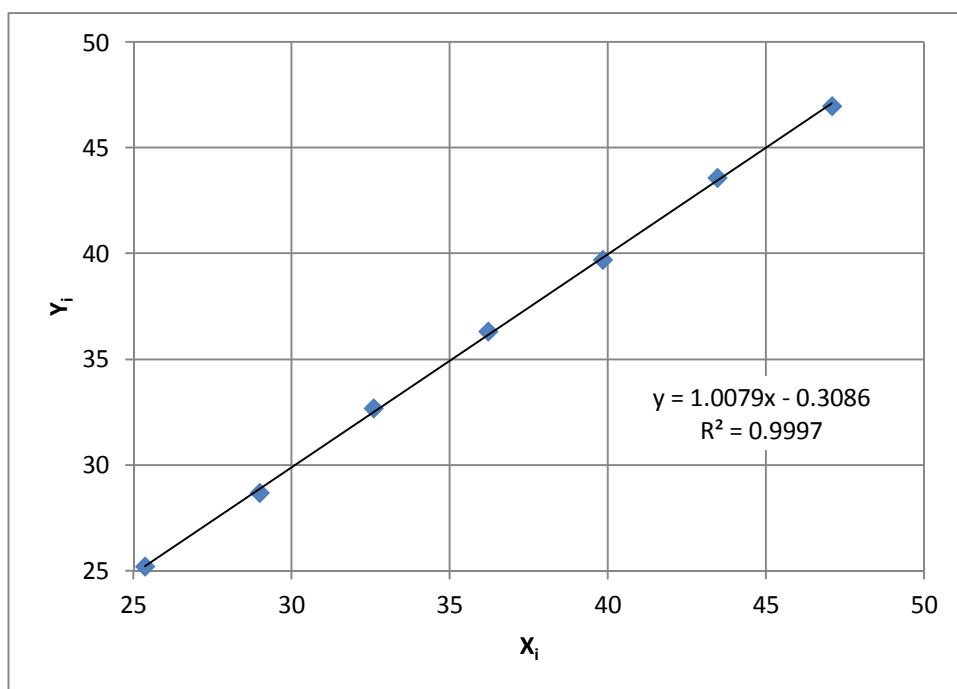


Рисунок Б.5 – График отклонений расчетных значений Y_i от полученных величин y_i содержания трипальмитолеина

Коэффициент корреляции для трипальмитолеина составляет 0,99986, что удовлетворяет критерию приемлемости. Приведен график зависимости расчетных значений Y_i от измеренных величин y_i : $a = -0,308571$; $b = 1,007893$.

Зависимость величины аналитического сигнала (отклика) от количества определяемого вещества в пробе в диапазоне концентраций от 70 до 130 % от номинального значения носит линейный характер, коэффициент корреляции для всех определяемых веществ соответствует рекомендуемым значениям.

5 Прецизионность

5.1 Повторяемость

Выполняется одним химиком в один день.

Из одной серии препарата готовили 6 испытуемых растворов по валидируемой методике. Каждый раствор готовили независимо друг от друга и

методом газо-жидкостной хроматографии определяли содержание трипальмитина и трипальмитолеина в растворе. Повторяемость характеризуется относительным стандартным отклонением RSD (%).

Критерий приемлемости: относительное стандартное отклонение должно быть не более 2%.

Полученные результаты приведены в таблицах Б.10 и Б.11.

Таблица Б.10 –Количественное определение содержания трипальмитина

№ п/п	Содержание трипальмитина, %			Среднее значение $X_{п i}$ %
	1 измерение	2 измерение	3 измерение	
1	45,18	45,29	45,08	45,18
2	45,35	45,28	45,23	45,29
3	45,21	45,06	45,25	45,17
4	45,08	45,16	45,20	45,15
5	44,91	44,82	44,88	44,87
6	45,29	45,11	45,16	45,19

$x_{cp} = 45,14$; $SD = 0,141763$; $RSD = 0,314$ %.

Таблица Б.11–Количественное определение содержания трипальмитолеина

№ п/п	Содержание трипальмитолеина, %			Среднее значение $X_{п i}$, %
	1 измерение	2 измерение	3 измерение	
1	36,42	36,32	36,30	36,35
2	36,21	36,18	36,27	36,22
3	36,28	36,19	36,30	36,26
4	36,40	36,48	36,39	36,42
5	36,34	36,40	36,31	36,35
6	36,09	36,08	36,17	36,11

$x_{cp} = 36,29$; $SD = 0,11149$; $RSD = 0,307$ %.

По данным таблиц видно, что относительное стандартное отклонение равное 0,314 % для трипальмитина и 0,307 % для трипальмитолеина, не превышает 2,0 %, это свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

5.2 Межлабораторная воспроизводимость

Испытания проводились двумя химиками в двух лабораториях: контрольно-аналитической лаборатории отдела контроля качества (данные представлены в таблицах Б.10 и Б.11) и аналитической испытательной лаборатории (таблицах Б.12 и Б.13).

Из одной серии препарата готовили 6 испытуемых растворов по валидируемой методике. Каждый раствор готовили независимо друг от друга и методом газо-жидкостной хроматографии определяли содержание трипальмитина и трипальмитолеина в растворе.

Таблица Б.12 –Количественное определение трипальмитина

№ п/п	Содержание трипальмитина, %			Среднее значение $X_{\text{п}}$ i %
	1 измерение	2 измерение	3 измерение	
1	45,41	45,30	45,31	45,34
2	45,31	45,36	45,39	45,35
3	45,18	45,15	45,27	45,20
4	45,35	45,27	45,30	45,31
5	45,20	45,18	45,08	45,15
6	45,43	45,41	45,45	45,43

$X_{\text{п ср}} = 45,29$; $SD = 0,10347$.

Таблица Б.13–Количественное определение трипальмитолеина

№ п/п	Содержание трипальмитолеина, %			Среднее значение $X_{\text{п}}$ i %
	1 измерение	2 измерение	3 измерение	
1	36,05	36,21	36,00	36,08
2	36,22	36,33	36,26	36,27
3	36,24	36,16	36,19	36,19
4	36,04	35,96	35,97	35,99
5	36,13	36,20	36,27	36,20
6	36,24	36,15	36,13	36,17

$X_{\text{п ср}} = 36,15$; $SD = 0,0994$.

Межлабораторная воспроизводимость подтверждается с помощью двух критериев: F-критерия Фишера и t-критерия Стьюдента.

Критерий приемлемости: вычисленное значение F должно быть не более табличного значения F-критерия Фишера; вычисленное значение t должно быть не более табличного значения t-критерия Стьюдента.

Результаты сравнения вычисленных и табличных значений F-критерия Фишера и t-критерия Стьюдента представлены в таблице Б.14.

Таблица Б.14–Вычисленные и табличные значения F-критерия Фишера и t-критерия Стьюдента

Вещество	F(95%, f_1, f_2)	t (95%, $f = 2n - 2$)
Трипальмитин	1,88	2,18
Трипальмитолеин	1,26	2,20
Табличное значение	5,05	2,23

Так как вычисленные значения F, трипальмитина и трипальмитолеина не превышают табличного значения F- критерия Фишера, то стандартные отклонения у двух аналитиков статистически эквивалентны.

Вычисленное значение t сравнивали с табличным значением t критерия Стьюдента t (95%, f), где $f = n_1 + n_2 - 2$ и так как $t < t(P, f)$, то с 95% вероятностью можно сделать заключение о статистической не значимости средних результатов анализа.

Вычисленные значения F и t для трипальмитина и трипальмитолеина удовлетворяют критерию приемлемости.

Все результаты по валидации методики количественного определения содержания трипальмитина и трипальмитолеина в концентрате масла облепихового методом ГЖХ приведены в таблице Б.15 валидационное заключение.

Результаты всех валидируемых параметров соответствуют критериям приемлемости.

Таким образом, разработанная валидационная методика компонентов методом ГЖХ отличается простотой выполнения и экспрессностью, время, затрачиваемое на пробоподготовку, анализ пробы методом ГЖХ и расчеты составляет около 1 часа.

Метод может быть использован для определения количественного содержания трипальмитина и трипальмитолеина в концентрате масла облепихового.

Таблица Б.15 –Валидационное заключение

Параметры	Критерии приемлемости	Результаты определения	
		трипальмитин	трипальмитолеин
Стабильность растворов,%	$ 100-ST \leq 3$	2,30	1,77
Специфичность	Коэффициент разделения пиков трипальмитина и трипальмитолеина (R_s) $\geq 1,0$.	На хроматограмме раствора «плацебо» отсутствуют пики, времена удерживания которых совпадают с временами удерживания пиков трипальмитина и трипальмитолеина на хроматограмме раствора модельной смеси. Коэффициент разделения пиков трипальмитина и трипальмитолеина (R_s) = 2,5	
Правильность доверительный интервал, %	98,0 ÷ 102,0	99,18 ÷ 101,16	98,37 ÷ 101,43
Линейность, коэффициент корреляции	$r \geq 0,99$	$r = 0,99982$	$r = 0,99984$
Повторяемость	$RSD \leq 2 \%$	0,314	0,307
Межлабораторная воспроизводимость	$F(95\%, f_1, f_2) \leq 5,05$ $t(95\%, f = 2n - 2) \leq 2,23$	$F = 1,88$ $t = 2,18$	$F = 1,26$ $t = 2,20$

ПРИЛОЖЕНИЕ В

ТУ 9141-121-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат из разных частей растения»

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «АЛТАЙВИТАМИНЫ»

ОКП 91 4130

Группа Н 62
(ОКС 67.200.10)



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Алтайвитамины»
Ю.А. Кошелев

«11 апреля» 2016 г.

Масло облепиховое концентрат
из разных частей растения
Технические условия
ТУ 9141-121-05783969-2016

Дата введения в действие - 11.04.16

РАЗРАБОТАНО
ЗАО «Алтайвитамины»
Руководитель Службы качества
Горемыкина Н.В.

Алтайский край
г. Бийск
2016 г

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

ТУ 9141-123-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат, полученный по разной технологии (экстракцией, центрифугированием и ферментативным гидролизом)»

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«АЛТАЙВИТАМИНЫ»**

ОКП 91 4130

Группа Н 62
(ОКС 67.200.10)



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Алтайвитамины»
Ю.А. Кошелев
апреля 2016 г.

**Масло облепиховое концентрат
полученный по разной технологии
(экстракцией, центрифугированием и
ферментативным гидролизом)**

**Технические условия
ТУ 9141-123-05783969-2016**

Дата введения в действие - 19.04.16.

РАЗРАБОТАНО
ЗАО «Алтайвитамины»
Руководитель Службы качества
Горемыкина Н.В.
Горемыкина Н.В.

Алтайский край
г. Бийск
2016 г

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

ТУ 9141-122-05783969-2016 «Масло облепиховое концентрат «Экстра»

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«АЛТАЙВИТАМИНЫ»**

ОКП 91 4130

Группа Н 62
(ОКС 67.200.10)



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Алтайвитамины»
Ю.А. Кошелев
Ю.А. Кошелев 2016 г.

Масло облепиховое концентрат

«Экстра»

Технические условия

ТУ 9141-122-05783969-2016

Дата введения в действие - 11.04.16.

РАЗРАБОТАНО
ЗАО «Алтайвитамины»
Руководитель Службы качества
Н.В. Горемыкина
Горемыкина Н.В.

Алтайский край
г. Бийск
2016 г

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Технологическая инструкция к ТУ 9141-122-05783969-2016 «Масло облепиховое
концентрат «Экстра»

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«Алтайвитамины»



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Алтайвитамины»
Ю.А.Кошелев
Ю.А. Кошелев 2016 г.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ

Масло облепиховое концентрат

«Экстра»

по

ТУ 9141-122-05783969-2016

Алтайский край
г. Бийск
2016 год

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

Акт внедрения материалов диссертации на ЗАО «Алтайвитамины»



ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ
ЗАО «АЛТАЙВИТАМИНЫ»

659325, Россия, Алтайский край, г. Бийск, ул. Заводская, 69
ИНН 2226002532, КПП 222601001, р/с 40702810900300000669 в филиале АБ «Газпромбанк» (ЗАО) в г. Барнаул,
БИК 040173753, к/с 30101810300000000753, ОКПО 05783969, ОКОНХ 19310, 71200, 72200.
Тел: (3854) 32-69-43 – приемная; 32-70-33 – коммерческий директор;
(3854) 33-87-19 – отдел маркетинга; 32-69-46, 32-69-47, 32-69-48 – отдел сбыта; Факс (3854) 32-76-40;
E-mail: office@altayvitamin.ru www.altayvitamin.ru



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Алтайвитамины»,
доктор фармацевтических наук
Ю.А.Кошелев
_____ 2016 г

Акт
внедрения материалов диссертации Горемыкиной Натальи Владимировны
на ЗАО «Алтайвитамины»

Производство и контроль качества концентрата облепихового масла
ведется в соответствии с утвержденной нормативной документацией.
Разработчик от Бийского технологического института – аспирант
кафедры общей химии и экспертизы товаров Горемыкина Наталья
Владимировна.

Настоящий акт подтверждает практическую ценность результатов
исследований при производстве концентрата облепихового масла и
входном контроле сырья.

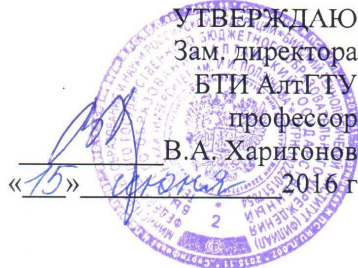
Директор по развитию
предприятия, к.т.н.

Кулешова Н.И.

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Акт внедрения материалов диссертационной работы в учебный процесс БТИ АлтГТУ

УТВЕРЖДАЮ
Зам. директора
БТИ АлтГТУ
профессор
В.А. Харитонов
«15» июня 2016 г.



Акт внедрения в учебный процесс материалов диссертационной работы Горемыкиной Натальи Владимировны

Настоящим удостоверяем, что основные положения диссертационной работы «Обоснование технологии и метода идентификации облепихового масла и товароведная оценка продуктов на его основе» аспиранта кафедры «Общей химии и экспертизы товаров» Горемыкиной Натальи Владимировны используются в учебном процессе при подготовке бакалавров и магистров по направлению 19.03.01, 19.04.01 «Биотехнология» и 19.03.02, 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья».

Зав. кафедрой «Биотехнология»,
д.ф.н.



Кошелев Ю.А.

ПРИЛОЖЕНИЕ К

Таблица К.1 - Матричная оценка риска

	Небольшой ущерб	Средний ущерб	Сильный ущерб
Невероятно	Незначительный риск	Приемлемый риск	Умеренный риск
Маловероятно	Приемлемый риск	Умеренный риск	Существенный риск
Вероятно	Умеренный риск	Существенный риск	Неприемлемый риск

Таблица К.2 - План матрицы управления рисками

Уровень риска	Действия и сроки
незначительный	Не требуется проведение действия и поддержания записей
приемлемый	Дополнительный контроль не требуется. Может быть рассмотрено более эффективное решение или улучшение, которое не вызовет дополнительных затрат. Требуется мониторинг для обеспечения уверенности, что контроль проводится.
умеренный	Следует предпринять действие по уменьшению риска, но затраты на предупреждение должны быть тщательно измерены и ограничены.
существенный	Следует применять GMP _s и GHP _s , проводить особые меры для поддержания риска на приемлемом уровне. Управление эффектом через измерения, при необходимости, процесс должен быть рассмотрен как ККТ.
неприемлемый	Процесс управляется как ККТ.

ПРИЛОЖЕНИЕ Л

ТУ 9122-124-05783969-16 Драже витаминизированное «Виталайф» «Облепишка»

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «АЛТАЙВИТАМИНЫ»

ОКП 91 2248

ОКС 67.160.10



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Алтайвитамины»
Ю.А. Кошелев
24 мая 2016 г.

ДРАЖЕ ВИТАМИНИЗИРОВАННОЕ «ВИТАЛАЙФ» «ОБЛЕПИШКА»

Технические условия
ТУ 9122-124-05783969-16

Дата введения в действие 24.05.16

РАЗРАБОТАНО
ЗАО «Алтайвитамины»
Руководитель службы
по управлению качеством
Горемыкина Н.В.

Алтайский край
г. Бийск
2016 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ М

ТУ 9122-125-05783969-16 Драже мягкое в капсулах «Облепиховое масло»

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «АЛТАЙВИТАМИНЫ»

ОКП 91 9769

ОКС 67.160.10



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Алтайвитамины»
Ю.А. Кошелев
Ю.А. Кошелев 2016 г.

Драже мягкое в капсулах
«Облепиховое масло»
(биологически активная добавка к пище)

Технические условия
ТУ 9197-125-05783969-16

Дата введения в действие 27.05.16.

РАЗРАБОТАНО
ЗАО «Алтайвитамины»
Руководитель службы
по управлению качеством
Н.В. Горемыкина
Горемыкина Н.В.

Алтайский край
г. Бийск
2016 г.