

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Рудаков Ярослав Олегович

**РЕФЕРЕНТНЫЕ И АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ СПОСОБЫ  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ ПРОДУКЦИИ ПИЩЕВОЙ  
ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

1.4.2. Аналитическая химия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание учёной степени  
кандидата химических наук

Научный руководитель  
д-р хим. наук, профессор  
Селеменев В.Ф.

Воронеж – 2025

## Оглавление

Список сокращений	4
Введение	5
<b>Глава 1. Обзор литературы</b>	<b>12</b>
1.1. Хроматографические методы в определении качества и безопасности пищевой продукции по химическому составу	12
1.2. Дифференциальный термический анализ и дифференциальная сканирующая калориметрия в определении качества пищевой продукции	25
1.3. Применение цифровой цветометрии в контроле пищевой продукции	34
<b>Глава 2. Объекты и методы анализа</b>	<b>43</b>
2.1. Хроматографическое оборудование и методики выполнения измерений	43
2.2. Методики дифференциальной сканирующей калориметрии	44
2.4. Методики цифровой цветометрии и ИК-спектроскопии	45
<b>Глава 3. Быстрый скрининг методом газовой хромато-масс-спектрометрии контаминантов в продукции пищевой промышленности</b>	<b>48</b>
3.1. Экспрессный способ определения метанола в этиловом спирте и алкоголе методом газовой хромато-масс-спектрометрии	48
3.2. Экспрессный способ определения кротонового альдегида в этиловом спирте и алкоголе методом газовой хромато-масс-спектрометрии	56
3.3. Экспрессный способ определения бисфенола А в спиртовых экстрактах	63

<b>Глава 4. Хроматографическое определение подлинности пищевой продукции по жирнокислотному и триглицеридному и составу жировой фазы</b>	
4.1. Химический состав продукции из растительного сырья	72
4.2. Жирнокислотный и триглицеридный состав жировой фазы молочной продукции	87
<b>Глава 5. Дифференциальная сканирующая калориметрия как альтернативный метод контроля качества пищевой продукции</b>	110
5.1. Дифференциальная сканирующая калориметрия жировой фазы продукции из растительного сырья	110
5.2. Дифференциальная сканирующая калориметрия коровьего молочного жира	120
<b>Глава 6. Применение цифровой цветометрии в контроле качества пищевой продукции</b>	125
6.1. Цифровая цветометрия как альтернатива спектрофотометрии	125
6.2. Применение цифровой цветометрии в ТСХ бисфенола А	130
Заключение	134
<b>Список литературы</b>	136
<b>Приложение</b>	161

## Список сокращений

БФА – бисфенол А

ГХ-МС – газовая хромато-масс-спектрометрия

ГХ-ПИД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором

ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия

ЖК – жирные кислоты

ИКС – инфракрасная спектрометрия

КА – кротоновый альдегид

МК – масло какао

МЖ – молочный жир

РМ – растительные масла

РП – расторопша дикорастущая

ТАГ – триацетилглицерины

ЦЦМ – цифровая цветометрия

## **Введение**

**Актуальность проблемы.** При аналитическом контроле пищевой продукции наиболее часто применяют аттестованные хроматографические методики, которые отличаются высокой селективностью, например, газово-хроматографические с пламенно-ионизационным детектированием (ГХ-ПИД), однако и они нуждаются в сопровождении альтернативными, референтными методиками, когда необходимо подтвердить натуральность, подлинность и высокое качество анализируемой продукции. Метод газовой хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС) получил применение в последнее время как арбитражный или референтный метод анализа органических соединений самого разнообразного строения, в том числе для идентификации компонентов и контаминантов в продукции пищевой промышленности. Сочетание методик ГХ-МС с методиками ГХ\_ПИД, а также с альтернативными способами анализа, такими как дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК), ИК-спектрометрия (ИКС), цифровая цветометрия (ЦЦМ), существенно повышает эффективность комплексных подходов, которые необходимы для контроля качества и безопасности пищевой продукции, отличающейся сложным химическим составом. Фальсификация пищевой продукции – глобальная проблема. Разработка комплексных подходов к определению ее качества инструментальными методами, в частности методом ГХ-МС, с широким внедрением его не только в исследовательскую, но и рутинную аналитическую практику, внедрение новых разработок в комплекс аттестованных методик анализа показателей продукции является актуальной проблемой.

**Предметом исследования** являются контаминанты (вредные примеси, попадающие в организм перорально) алкогольной, масложировой продукции, химический состав этой продукции. Применение комплекса хроматографических, термических и оптических методов анализа в установлении натуральности, подлинности или фальсификации продукции, контаминации ее ксенобиотиками.

**Степень разработанности темы исследования.** ГХ-ПИД и ГХ-МС успешно используется в анализе минорных примесей ректификованного спирта, ликеро-водочных изделий (работы Нигматуллина А.Т., Савчук С.А., Шелеховой Н.В.), в анализе пестицидов и контаминантов в растительном сырье и готовых продуктах питания (работы Амелина В.Г., Крылова А.И., Ревельского А.И.), в допинг-контроле и клиническом анализе (Темердашев А.З.). Комплекс хроматографических и других методов применяется в анализе состава многокомпонентной продукции в тех случаях, когда один метод не позволяет охватить весь спектр определяемых веществ, при этом быстрый скрининг проб продукции на идентификацию и содержание заданного вещества нередко возлагается на метод ГХ-МС.

**Цель исследований.** Разработка подходов по применению вариантов газовой хроматографии (ГХ-МС и ГХ-ПИД) в быстром скрининге контаминантов в продукции пищевой промышленности, в определении натуральности и качества масложировой продукции, проверка референтных и разработка альтернативных способов определения подлинности продукции по комплексу хроматографических, теплофизических и оптических данных.

В исследовании решались следующие **задачи:**

- подобрать условия экспрессного определения методом ГХ-МС метанола, кротонового альдегида, бисфенола А (БФА) в этаноле, водно-спиртовых растворах и экстрактах;
- выявить общие закономерности хроматографического поведения жирных кислот, триацилглицеринов растительных масел и молочного жира в условиях капиллярной ГХ-ПИД и пиролитической газовой хроматографии с масс-селективным детектором (ГХ-МС);
- сформировать базу данных по теплофизическим свойствам масложировых продуктов, проанализировать влияние химического состава масложировой продукции на ее теплофизические свойства с привлечением хроматографических данных;

- сформировать хроматографическую базу данных по жирнокислотному и триглицеридному составу различных масложировых продуктов, выполнить статистический анализ этих данных для проверки или установления диапазонов естественных колебаний химического состава и признаков натуральности масел и жиров, разработать контрольные карты и экспериментально проверить критерии подлинности многокомпонентной продукции.
- применить оптические методы (ИКС и ЦЦМ) как вспомогательные в идентификации компонентов продукции.

### **Научная новизна работы:**

Разработаны новые способы экспрессного определения метанола, кротонового альдегида, БФА в этаноле, водно-спиртовых растворах и экстрактах методом ГХ-МС.

Впервые разработан способ анализа молочного жира и пальмового масла методом пиролитической ГХ-МС.

Разработан способ прямого определения (без дериватизации) БФА методом ГХ-МС с применением термически стабильной стационарной жидкой фазы.

Разработан способ определения пищевой добавки Е 471 (смесь моно- и диацилглицеринов), в молочном жире методом ИКС.

Установлены тесные природные корреляции между жирными кислотами (ЖК) и триацилглицеринами (ТАГ) в натуральном молочном жире и растительных маслах, которые могут служить критериями натуральности масложировой продукции. Получены данные по теплофизическим свойствам и химическому составу жирного масла расторопши дикорастущей, установлены климатические факторы, влияющие на состав и свойства масла.

Получены данные по теплофизическим свойствам молочного жира коров разных пород, разводимых в Воронежской области, установлена взаимосвязь этих свойств с химическим составом жировой фазы молочного жира.

**Теоретическая значимость.** Выявленные характеристичные корреляции важны при изучении биохимических процессов и влиянии на них генотипических (сорта или породы) и фенотипических факторов (условий выращивания или условий содержания). Соблюдение естественных корреляций является одним из четких критериев натуральности продукции. Наличие естественных корреляций принципиально применимо не только к липидам, но и к другим компонентам природного сырья (аминокислотам и углеводам).

**Практическая значимость.** Разработанные способы быстрого скрининга в продукции пищевой промышленности метанола, кротонового альдегида, бисфенола А методом ГХ-МС отличаются высокой надежностью идентификации и могут служить для разработки референтных методик.

Разработан комплексный подход для определения качества и безопасности, натуральности масложировой продукции с использованием методов ГХ-ПВД, ГХ-МС, ВЭЖХ, ТСХ, ДСК и ИК-спектроскопии, обеспечивающий достоверный контроль качества продукции.

Разработан программно-аналитический комплекс «Система идентификации пищевых жиров и масел», апробированный на продукции, реализуемой в торговых сетях г. Воронежа, служащий аналитику для установления подлинности или фальсификации продукции по набору хроматографических данных и другим показателям. Предложены контрольные карты, визуализирующие идентификационные зоны, ускоряющие и облегчающие процедуру идентификации по нормируемым диапазонам показателей с учетом погрешности их определения.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Условия быстрого скрининга проб спиртосодержащей продукции на содержание метанола, кротонового альдегида и БФА с применением ГХ-МС МС с применением абсолютной градуировки и режима SCAN

2. Наличие корреляций в химическом составе и теплофизических характеристиках в образцах натуральных жиров и масел может служить критерием натуральности и подлинности продукции.
3. Алгоритм подтверждения подлинности или выявления фальсификации масложировой продукции по контрольным картам, включающих погрешности определения.
4. Применение бытовых смартфонов и метода ЦЦМ в определении цветного числа растительных масел, в определении БФА методом ТСХ в тест-контроле качества продукции.

**Апробация работы.** Результаты исследований доложены на следующих научных семинарах, конференциях, симпозиумах, конгрессах 2020-2024 г: *Внутривузовские ежегодные научные семинары и конференции ВГУ, ВГТУ (г. Воронеж, 2020-2024 г).*

*Всероссийские: XVII Всеросс. научно-практ. конф. «Проблемы практической подготовки студентов», Воронеж, 2020; Всеросс. симпозиум и школа-конференция молодых ученых. «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях», Москва, 2021; Всеросс. научно-практ. конф. «Инновационное предпринимательство: вопросы прикладных исследований», Воронеж, 2021; IX и X Всеросс. конф. с междунар. участием «Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах» (ФАГРАН-2021, ФАГРАН-2024), Воронеж, 2021, 2024; Нац. научно-практ. конф. «Инновационное предпринимательство: проблемы и пути их решения» Воронеж, 2022; IX Всеросс. симпозиум и школа-конф. молодых ученых, приуроченный к 150-летию со дня рождения М.С. Цвета «Кинетика и динамика сорбционных процессов», Москва, 2022; IV Съезд аналитиков России, Москва, 2022; Всеросс. конф. с междунар. участием «Проблемы и инновационные решения в химической технологии» (ПИРХТ-2022), Воронеж, 2022; IV Всеросс. конф. по аналитической спектроскопии с междунар. участием, Краснодар 2023.*

*Международные: VI Междунар. научной конф. «Донецкие чтения 2021: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности», Донецк, 2021; IX Междунар. научно-практич. конф. «Продовольственная безопасность: научное, кадровое и информационное обеспечение», Воронеж, 2023; VIII Междунар. научно-техническая конф. «Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство», Воронеж 2023; XXII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, Сочи. 2024.*

**Методология и методы исследования.** Методологическая основа исследования базировалась на принципах системного подхода и включала комплекс общенаучных методов познания и методов аналитической химии. Методом ГХ-ПИД аттестованными методиками определен жирнокислотный и триглицеридный состав жиров и масел, методом ИКС найдены моно- и диглицериды в молочном жире. Методом пиролитический ГХ-МС исследованы продукты пиролиза жиров. Методом ГХ-МС проведен быстрый скрининг продукции на наличие метанола, кротонового альдегида и БФА. Измерения цветометрических характеристик различных образцов продукции и пятен ТСХ выполнен с помощью смартфонов. Статистические расчеты, построение матриц корреляций и диаграмм, контрольных карт проводили в оболочке MS Excel 2019.

**Личный вклад автора** заключается постановке цели и теоретическом обосновании проблематики исследования, в разработке общих подходов к изучению закономерностей хроматографического поведения целевых аналитов, в систематизации, статистическом и корреляционном анализе собственных и литературных данных. В публикациях с соавторами личное участие автора в получении результатов, составляющих основу диссертационного исследования, является определяющим.

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 20 работ, в том числе 9 статей в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования научных трудов, 10 публикаций в изданиях, индексируемых в РИНЦ, в том числе тезисов докладов на международных, всероссийских

конгрессах, симпозиумах и конференциях, получено 1 свидетельство гос. регистрации программы.

**Структура работы.** Работа состоит из введения, 6 глав, списка цитируемой литературы из 205 источников, приложения. Материал работы изложен на 163 страницах, содержит 36 рисунков, 30 таблиц, приложение с титульным листом гос. регистрации программы, актами апробации.

В Главе 1 представлены современное состояние химического анализа состава компонентов пищевой продукции, добавок и примесей с применением хроматографических методов, достижения термического анализа в определении качества пищевой продукции. Обобщен опыт применения ЦЦМ в контроле пищевой продукции. В Главе 2 «Объекты и методы анализа» дано описание объектов, оборудования и методик выполнения анализа методами ГХ, ТСХ, ДСК, ИКС и ЦЦМ. Глава 3 «Быстрый скрининг методом газовой хромато-масс-спектрометрии контаминантов в продукции пищевой промышленности» посвящена описанию способов определения метанола, кротонового альдегида и БФА с применением метода ГХ-МС в этаноле, спиртных напитках и спиртосодержащих жидкостях. В Главе 4 «Хроматографическое определение подлинности пищевой продукции по жирно-кислотному и триглицеридному составу жировой фазы» обсуждены подходы в интерпретации хроматографических данных, их визуализации для решения экспертных задач. В Главе 5. «Комплексное применение хроматографических и теплофизических данных для характеристики масложировой продукции» сопоставлены хроматографические данные с результатами изучения теплофизических свойств растительных масел методом ДСК на примере биологически ценного масла расторопши (РП) и молочного жира (МЖ). Глава 6. «Применение цифровой цветометрии в контроле качества пищевой продукции» посвящена определению с помощью смартфона цветного числа растительных масел (РМ), и применению ЦЦМ в тандеме с ТСХ в определении контаминанта БФА.

## **Глава 1. Обзор литературы**

### **1.1. Хроматографические методы в определении качества и безопасности пищевой продукции по химическому составу**

В России успешно действует научные школы, развивающие различные хроматографические методы: в Москве, Санкт-Петербурге, Новосибирске, Нижнем Новгороде, Самаре, Челябинске. В Воронеже также с послевоенных лет получила развитие собственная научная школа по хроматографии и ионному обмену, которой в настоящее время руководит профессор Селеменев В.Ф. Воронежские ученые обеспечивают научное сопровождение аграрного сектора промышленности Воронежской области и Центрального Черноземья [1-4]. Широкое применение комплекса хроматографических методов в аналитическом контроле качества и безопасности пищевой продукции зиждется на достижениях ученых и инженеров в теории, практике и техническом прогрессе в области хроматографии.

Хроматографические методы основаны, как известно, на разделении смеси аналитов (сорбатов) за счет процессов динамической сорбции и десорбции в бинарной гетерогенной системе, состоящей из подвижной и неподвижной фаз. Разделенные компоненты анализируемой смеси поочередно попадают в детектор, регистрирующий аналитические сигналы в виде хроматограммы, на которой время удерживания характеризует хроматографические свойства, а геометрические размеры пиков – концентрацию аналитов в пробе.

Пищевая продукция многокомпонентна, т.е., имеет сложный химический состав. Наряду с главными и обеспечивающими пищевую ценность компонентами – белками, углеводами, жирами, эти многокомпонентные гетерогенные матрицы содержат сравнительно низкомолекулярные органические вещества – витамины, БАВ и минеральные вещества природного, искусственного и синтетического происхождения. Кроме полезных биологически активных веществ пищевая продукция содержит разнообразные пищевые добавки, улучшающие реологические,

органолептические и технологические характеристики продукции. Вместе с тем, в ней могут присутствовать контаминанты – загрязнители природного и антропогенного происхождения, ухудшающие качество и безопасность пищевой продукции, которые попадают в организм перорально.

В аналитической практике лабораторий Роспотребнадзора, в чью функциональную обязанность входит госконтроль над качеством и безопасностью пищевой продукции, не существует одного универсального метода анализа. Для определения основного химического состава продукции (содержание белков, углеводов, жиров, БАВ, минералов), обнаружения контаминантов, загрязняющих продукцию, применяют целый комплекс хроматографических методов. Так, различные методы газовой хроматографии используются для определения летучих органических соединений ( $M < 400$ ), подвижной фазой в этом случае служит газ-носитель. Жидкостная хроматография, в первую очередь, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), в которой подвижной фазой является смесь растворителей, применяется для разделения и анализа термолабильных и сравнительно высокомолекулярных веществ ( $M > 400$ ). Ионогенные вещества, органические и неорганические электролиты – аналиты для ионообменной хроматографии (ИХ) и капиллярного электрофореза (КЭ, не является хроматографическим методом, его роднит с хроматографией наличие жидкой подвижной фазой). Для олигомеров, полимеров, биополимеров, наночастиц применима эксклюзионная (гельпроникающая хроматография, ГПХ) и гидродинамическая жидкостная хроматография (ГДХ), а также фракционирование в потоке в силовом поле (FFF, в этом методе жидкость является подвижной фазой, но механизм удерживания отличен от хроматографии) [1-18].

*Химический состав пищевой продукции.* Химический брутто-состав пищевой продукции – количестве жиров, углеводов, белков, витаминов и других биологически активных добавок (БАД) определяют с целью сертификации продукции, для установления ее пищевой ценности. Чтобы

определить натуральность продукции, аутентичность, т.е. отсутствие фальсификации, требуется идентификация отдельных компонентов жиров, углеводов и аминокислот, выявление наличия или отсутствия тех или иных компонентов, или количественного соотношения аналитов. С этой точки зрения методы хроматографии, отличающиеся высокой эффективностью и селективностью разделения, являются приоритетными методами анализа в пищевой индустрии [18].

С точки зрения качества и безопасности продукции важнейшей задачей является определение наличия в ней экотоксикантов и контаминантов в количествах не превышающих предельно допустимую концентрацию (ПДК) [18].

Если брутто-состав определяется методами физической сепарации, экстракции и классического химического анализа, то для решения задач идентификации и выявления конкретных химических соединений применяются те или иные многочисленные хроматографические методы (табл. 1.1), приведенные в обзоре [18] и в цитируемой в нем литературе.

Таблица 1.1. Хроматографические методы в определении химического состава пищевой продукции и ее загрязнителей [5-23, 25-28].

Метод разделения	Методы детектирования	Определяемые химические соединения
Капиллярная газожидкостная хроматография (ГЖХ)	Масс-спектрометр (МС), тандемный масс-спектрометр (МС/МС)	<i>цис</i> -, <i>транс</i> -изомерные жирные кислоты, пестициды, гербициды, метаболиты ксенобиотиков, стирол, бисфенол А, нонилфенол, глицидиловые эфиры, 3- и 2-хлорпропандиолы
ГЖХ, парофазный анализ (ПФА), ПФА-МС	Пламенно-ионизационный детектор (ПИД)	пестициды, гербициды, метанол, ПАВ, эфиры жирных кислот
ГЖХ	Детектор электронного захвата (ДЭЗ)	Галогенсодержащие пестициды, инсектициды, гербициды, бисфенол А
ВЭЖХ	МС, МС/МС	антибиотики, микотоксины, диоксины, ПАУ, инсектициды, сульфаниламиды, амфениколы, пенициллины, тетрациклины, витамины

ВЭЖХ	спектрофотометрические детекторы (УФД, СФД), рефрактометрические детекторы (РМД), электрохимические детекторы (ЭХД), детекторы по светорассеянию испаренного образца (ELSD)	Консерванты, тартразин, метаболиты ксенобиотиков, фенолы, эфиры фталатов, сульфаниламиды, фталаты, углеводы (монозы, биозы, триозы) и их производные, витамины, липиды, аминокислоты
ВЭЖХ	Флуориметрический детектор (ФЛД)	Макролиды, антибиотики, фикотоксины, афлатоксины
Ионная хроматография (ИХ)	ЭХД	Токсичные элементы, органические и неорганические ионы, нитраты, ПАВ, сульфиты, аминокислоты, пептиды, фосфолипиды
Эксклюзионная хроматография (ЭХ, ГПХ)	Рефрактометрический детектор (РМД)	Олигосахариды, полисахариды, наночастицы, полипептиды, белки
Капиллярный электрофорез	ЭХД, СФД	Антибиотики, ионный состав, ПАВ, консерванты, бисфенол А, аминокислоты, водорастворимые витамины
Тонкослойная хроматография (ТСХ)	Видеоденситометры, сканеры, фотокамеры, смартфоны, УФ-камеры	экоксиканты, антибиотики, микотоксины, фенолы, бисфенол А
Гидродинамическая хроматография	РМД, СФД	Биополимеры, наночастицы, микроорганизмы
Фракционирование в потоке в силовом поле (FFF)	РМД, СФД	Биополимеры, наночастицы, микроорганизмы, пыль

*Газовая хроматография.* В газовой хроматографии пищевой продукции в настоящее время применяют преимущественно капиллярные колонки (25-100 м) и пламенно-ионизационные детекторы (ПИД). Работа ПИД основана на изменении фонового тока водородного пламени при внесении в него органического вещества [18].

Другой ставший популярным детектором в пищевой химии стал масс-селективный детектор. Хромато-масс-спектрометрия — это гибридный метод анализа, сочетающий хроматографию и масс-спектрометрию. Сочетание газового хроматографа и масс-спектрометра (ГХ-МС) усиливает возможности

обоих методов. Масс-спектрометр – высокочувствительный детектор, универсальный и селективный одновременно, с уникальной способностью по идентификации компонентов. Возможности МСД для качественного анализа в хроматографии превосходят возможности любых других детекторов. Масс-селективный детектор (МСД) позволяет идентифицировать соединения не только по временам удерживания, но и сравнением масс-спектра пика определяемого вещества с библиотечным. Библиотеки насчитывают сотни тысяч различных соединений, а программное обеспечение проводит поиск в считанные секунды и выдает результат с некоторой вероятностью идентификации. Масс-спектрометр благодаря хроматографу сканирует разделенные индивидуальные соединения, таким образом аналитик работает с чистыми масс-спектрами. В аналитическую практику внедрены тандемные масс-спектрометры с квадрупольным масс-анализатором (МС/МС), они в сочетании с газовой хроматографией нашли широкое применение в аналитических решениях проблем биотехнологии, медицины, экологии и др. [17-27].

Разработаны и внедрены в газовую хроматографию десятки различных по принципу действия детекторов. Например, катарометр, или детектор по теплопроводности (ДТП). В основу работы ДТП положен процесс передачи тепла от нагретого термочувствительного элемента к более холодному корпусу детектора за счет теплопроводности газового потока. С изменением состава газового потока меняется его теплопроводность. Детектор универсальный, но менее чувствительный, чем ПИД [17,18].

Следует упомянуть еще детектор электронного захвата (ДЭЗ), применяемый для контроля над рядом контаминантов. Принцип действия этого детектора основан на захвате молекулами анализируемых соединений свободных электронов, находящихся в ионизационной камере детектора. В ДЭЗ устанавливается источник бета-излучения. Детектор селективен к галогенорганическим соединениям. Активно применяется для анализа хлорорганических пестицидов и летучей галогенорганики [17,18].

В анализе качества и безопасности алкогольной продукции (она является частью ассортимента продукции пищевой промышленности) используется комплекс хроматографических методик, прежде всего ГЖХ [29-46]. Определение примесей в пищевом спирте, водках, крепких напитках имеет ряд кардинальных отличий от определения компонентов пива, вина, ликеров и прочей алкогольной продукции. В питьевом этаноле нет многих компонентов, особенно нелетучих, характерных для пивоваренной и винодельческой продукции (углеводов, органических кислот, полифенолов, антоцианов, витаминов, пептидов и др.), но есть примеси, попавшие в конечный продукт из исходного сырья или иным путем, присутствующие в микроколичествах [29]. Это в первую очередь метанол. С одной стороны, это маркер натурального этанола [43-46]. С другой стороны, это токсикант (контаминант), доля которого строго регламентируется в спиртных напитках. Другие примеси, даже в следовых количествах, способны влиять на дегустационные органолептические показатели алкогольной продукции. Но они так же небезопасны для здоровья. В [46-55] обсуждены разработки с применением методов ГХ-ПИД, ГХ-МС, ГХ, совмещенная с офтальмометрическим определением, а также с комплексом методик ВЭЖХ, капиллярного электрофореза, ИХ, ПФА и пиролитической ГХ.

*Жидкостная хроматография.* В жидкостной хроматографии, в варианте ВЭЖХ, применяется своя линейка детекторов [18]. Прежде всего универсальный рефрактометрический детектор (РМД), ультрафиолетовый (УФД), спектрометрический (СФД), включающий ультрафиолетовый, видимый и частично инфракрасный диапазон спектра, флуориметрический детектор (ФЛД), детектор по светорассеянию испаренного образца (ELSD). После решения технической проблемы сочетания жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии получили развитие методы ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-МС/МС [13,17,18].

В ионной хроматографии (ИХ) нашли использование кроме оптических детекторов различные электрохимические детекторы (ЭХД) – кондуктометрические и амперометрические [9,13,17,18].

Отдельно стоит сказать о методе тонкослойной хроматографии (ТСХ). Этот метод основан на применении пластин, на которые нанесен слой сорбента, качественным аналитическим сигналом в методе служит фактор замедления  $R_f$  – отношение расстояния, пройденного центром пятна, к расстоянию, пройденному фронтом растворителя, а не время удерживания, а количественным – площадь пятна и интенсивность его окраски, после проведения хромофорной реакции, если аналит не имеет собственного цвета [13, 18, 25, 26].

Таблица 1.2. Пути контаминации пищевой продукции [28]

Источники загрязнений	Вид сырья	Пути контаминации	Контаминанты
Антропогенный	Растительное сырье, корма	Прямое осаждение на листьях, плодах и других открытых частях растений	Пестициды, инсектициды, фунгициды, гербициды, глифосат
Природный и антропогенный	Растительное сырье, корма	Всасывание через корневую систему из загрязнений почвы	Соли кадмия, свинца, цинка, ртути, минеральные удобрения, нитраты
Антропогенный	Сырое молоко, мясо	Аккумуляция в тканях животных, используемых для стимуляции их роста и лечения	Гормоны, антибиотики, ветеринарные препараты
Антропогенный	Сырое молоко, мясо	Образование в процессе технологической обработки, упаковки, транспортировки	ПАУ, нитрозоамины, фенолы, олово, свинец
Антропогенный	Полупродукты и продукты	Специальное внесение в продукт с целью улучшения его потребительских свойств и обеспечения ложноположительных интегральных показателей качества	Пищевые добавки, красители, консерванты, антиоксиданты, эмульгаторы, ароматизаторы, нейтрализаторы и др.
Природный	Молочные и мясные полупродукты и продукты	Бактериальная обсемененность и размножение бактерий с возможным образованием токсинов	<i>B. cereus</i> , токсины, <i>Cl. botulinum</i> , сальмонеллы, стафилококковые энтеротоксины и др.

Природный и антропогенный	Продукты переработки	Аккумуляция в продуктах при употреблении контаминированных кормов	Микотоксины: афлатоксины, охратоксины
Природный	Продукты переработки	Поражение паразитами	Паразиты и продукты их жизнедеятельности
Природный и антропогенный	Вода	Загрязнение источников питьевой воды, при транспортировке и в технологических процессах	Тяжелые металлы, органика, хлорорганика, ПАВ
Антропогенный	Вода	Миграция из тары	Микро- и нанопластик
Природный и антропогенный	Спиртные напитки	Загрязнение питьевой воды, побочные продукты брожения, применение синтетического и гидролизного этанола, загрязненная тара	Метанол, изопропанол, сивушные масла, уксусный и кротоновый альдегиды, фталаты

В этом методе для качественного и количественного определения используются видеоденситометры, сканеры, цифровые фотокамеры, смартфоны, УФ-камеры, если определяемое вещество или фон пластины имеют поглощение в ультрафиолетовом диапазоне [10,13,18,25,26].

В табл. 1.2 приведены основные хроматографические методы разделения и способы детектирования химических соединений в пищевой продукции, в табл. 1.2 и 1.3 приведены пути контаминации на разных технологических стадиях получения продуктов питания [28].

Таблица 1.3. Технологические стадии, на которых происходит загрязнение [28]

Стадия жизненного цикла продукции	Субъект воздействия	Контаминанты
Стадия получения сырого молока и мяса, муки	Объекты окружающей среды, корма	Пестициды, ветпрепараты и их метаболиты, природные токсины, токсичные и следовые элементы, аллергены

Стадия переработки молока и мяса, выпечка	Технологическое оборудование, обоснованные компоненты рецептуры и добавки	Токсичные элементы, фальсифицирующие добавки, наночастицы, моноклорпропандиолы, глицидиловые эфиры жирных кислот
Стадия упаковки готового продукта или полуфабриката	Упаковочные материалы, компоненты из тары	Тяжелые металлы, бисфенол А, мономеры, пластификаторы, наночастицы, микропластик
Стадия хранения	Микроорганизмы	Мигрирующие из упаковки контаминанты, микотоксины

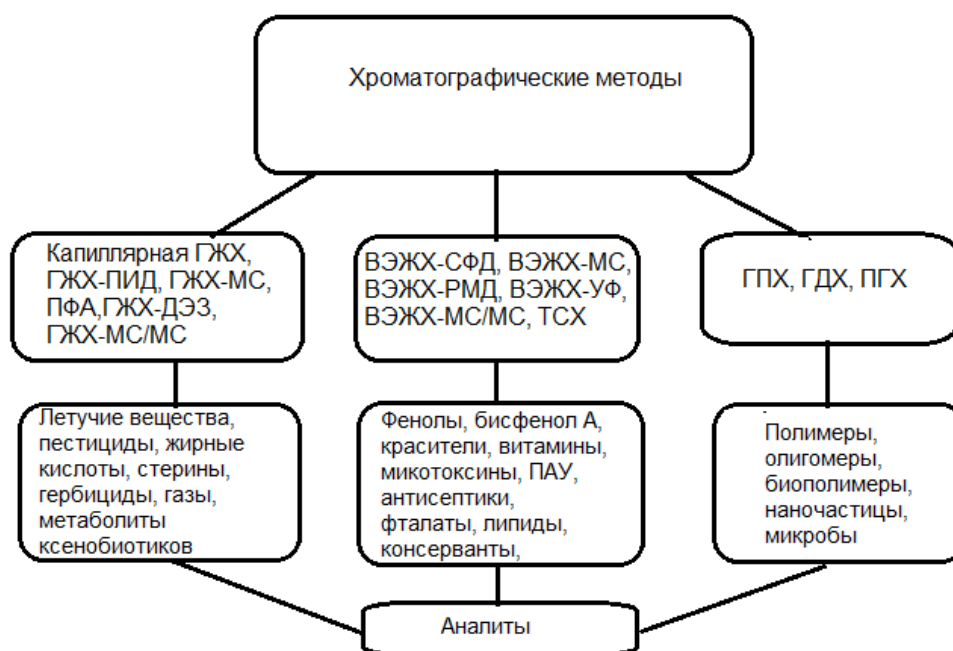


Рис. 1.1. Хроматографические методы в определении химического состава пищевой продукции [28]

*Методы подготовки проб.* Ахиллесовой пятой хроматографических методов является подготовка проб. Для введения в хроматографическую колонку и в случае ГХ, и ВЭЖХ, требуется смесь аналитов перевести, как правило, в раствор, который помещается в шприц, кран-дозатор, или

автосемплер и уже с помощью этих дозирующих устройств небольшое количество пробы вводится в хроматографическую систему [13, 18, 27].

Пищевой продукт является гетерогенной системой неоднородной консистенции, перед хроматографическим анализом его измельчают, затем извлекают из образца искомые аналиты. Для этого применяют самые разнообразные физические и физико-химические методы сепарации: твердофазную экстракцию (ТФЭ), микро-ТФЭ; низкотемпературную ТФЭ, жидкостно-жидкостную экстракцию (ЖЖЭ), высаливание, высахаривание, микро-ЖЖЭ, дисперсионную микро-ЖЖЭ, флюидную экстракцию, низкотемпературную микро-ЖЖЭ (liquid-liquid extraction with partition at low temperature, LLE-PLT), экстракционное вымораживание, газовую экстракцию (head space), экстракцию ионными жидкостями, комбинацию способов разделения, получившую название квечерс (QuEChERS), (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe – быстрый, простой, дешевый, эффективный и безопасный) [25,26,27,55,56-60].

ЖЖЭ в разных модификациях основана на переводе веществ из одной жидкой фазы в другую при их непосредственном контакте; при этом жидкие фазы не должны смешиваться, то есть их взаимная растворимость должна быть очень мала. Если одна фаза – полярная жидкость (вода), а вторая – неполярный растворитель, гидрофобные компоненты вытесняются во второй растворитель, а гидрофильный – в воду. Этому способствуют высаливание, высахаривание, вымораживание и даже просто понижение температуры. В этих случаях возможно применение растворителей, которые расслаиваются с водой при высаливании, добавлении водорастворимого полимера или при низких температурах (LLE-PLT). ЖЖЭ применяют как с целью получения первоначального экстракта твердых, жидких или диспергированных образцов, так в целях очистки экстракта и замены растворителя экстракта [57].

В газовой хроматографии летучих соединений применяют метод парофазного анализа (ПФА, head space) [25,57]. Для извлечения летучих целевых соединений используют парофазную экстракцию. Сущность этого

подхода состоит в выделении из образца паров, содержащихся в нем летучих соединений, при помощи нагревания, пропускания потока инертного газа или при применении комбинации обоих воздействий. Агрегатное состояние образца может быть как жидким, так и твердым.

Метод твердофазной экстракции (ТФЭ), основанный на извлечении целевых соединений из жидких образцов, экстрактов и газообразных образцов путем их адсорбции на малых количествах (от нескольких до сотен мг) адсорбционных материалов стал одним из основных в аналитической практике [18,27]. «Элюирование (смыв) целевых аналитов осуществляют сравнительно небольшими объемами в пределах десяти миллилитров, что дает возможность избежать при проведении пробоподготовки операций, связанных с применением и расходом больших объемов растворителей. Метод адсорбционной очистки (АО), основанный на извлечении из жидких образцов и экстрактов мешающих анализу компонентов матрицы путем адсорбции на малых количествах (от нескольких до сотен миллиграмм) адсорбционных материалов. При проведении АО целевые соединения (аналиты) проскакивают через сорбционный материал, то есть не сорбируются, а остаются в пробе (экстракте). Закономерности и технические средства проведения ТФЭ и АО одинаковы; различие подходов заключается в логике их применения» [27]. «В методе ТФЭ целевые соединения на первой стадии удаляются из образца (экстракта) адсорбцией на подходящем материале, что позволяет проводить как очистку пробы, так и ее концентрирование, а также проводить замену растворителя пробы. В методе АО целевые соединения проскакивают через сорбент, который лишь поглощает часть загрязняющих пробу соединений; таким образом, АО применима исключительно для проведения очистки пробы. Нередко АО осуществляют на достаточно дешевых сорбентах, которые применяют однократно и выбрасывают после использования. При проведении ТФЭ, напротив, стараются регенерировать адсорбционные материалы и использовать их многократно, что дает возможность применять для твердофазной экстракции более дорогие и качественные (нередко также

специализированные) адсорбенты. В совокупности ТФЭ и АО называют сорбционными методами подготовки пробы. Сорбция может осуществляться в статических и динамических условиях» [27].

Широкое применение в анализе пищевых продуктов получил комбинированный метод пробоподготовки квачерс (QuEChERS) [27,56,58]. Метод QuEChERS используют для обнаружения остатков пестицидов, антибиотиков, полиароматических углеводов (ПАУ), полихлорированных дифенилов и других контаминантов в пищевых продуктах. Образец (фрукты, овощи, яйца и т.д.) гомогенизируют, центрифугируют с реагентом и перемешивают в течение одной минуты. Используемые реагенты зависят от типа анализируемого образца. Затем проводится экстракция. Этот шаг основан на распределении вещества между фазами посредством высаливания или холодной ЖЖЭ. При этом устанавливается равновесие между водной и органической фазами. На втором этапе осуществляется очистка способом дисперсионной твердофазной экстракции (ТФЭ) с последующим использованием различных сочетаний солей и пористых сорбентов, чтобы удалить мешающие вещества. Детектирование соединений обычно проводится методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) или жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) [18].

После получения в результате операций отделения аналитов от матрицы продукта в виде раствора с достаточной концентрацией может потребоваться дополнительная стадия подготовки – дериватизация [18]. Для целей ГЖХ аналиты переводят в сравнительно летучее производное. Например, жиры подвергают гидролизу, образовавшиеся жирные кислоты метилируют [12]. Смесь метиловых эфиров жирных кислот анализируют методом ГЖХ. Смесь моно- и дисахаридов силилируют, и методом ГЖХ анализируют силилпроизводные. В случае ВЭЖХ также используют получение производных, например, для того, чтобы их можно было бы детектировать оптическими или масс-спектрометрическими детекторами [13,18,61].

*Пиролитическая хроматография.* Определенные возможности при идентификации пищевой продукции имеет метод пиролитической газовой хроматографии (ПГХ) [12,18, 63]. ПГХ нашла свое применение в анализе полимеров. В пиролизере происходит термический распад полимера на различные сравнительно низкомолекулярные соединения. Продукты пиролиза для полимеров, отличающихся первичной структурой, фракционным составом, строением мономерных звеньев, регистрируются на хроматограммах в виде набора пиков, специфичного для того или иного полимера, давая своеобразные «отпечатки пальцев». Этот метод применим и для идентификации биополимеров, белков и олиго- и полисахаридов, липидов. Современное сочетание ПГХ с масс-спектрометром (ПГХ-МС) открывает дополнительные возможности метода, так как по масс-спектрам разделенных продуктов пиролиза можно расшифровать химическую структуру полимера и технологию производства (обратный инжиниринг), выявить механизм и кинетику деградации анализируемого объекта, провести качественный и количественный анализ добавок (антиоксиданты, стабилизаторы, пластификаторы, антистатики, антипомутнители, огнеупоры, порообразователи и др.) [63]. Таким образом, метод ПГХ-МС пригоден для контроля качества и безопасности полимерной тары и упаковочных материалов, применяемых в пищевой промышленности. Упаковка является одним из источников контаминации пищи [18, 28, 64-67]. Но этот метод применим и для анализа сложных природных матриц, из которых состоит пища, в этих матрицах содержится большое количество различных пищевых добавок и биополимеров. Большим преимуществом ПГХ-МС является то, что пиролитическая ячейка не требует перевода твердого образца в раствор, то есть минимизируется алгоритм подготовки проб. При программируемом нагреве ячейки в начале хроматографируются летучие компоненты и только затем продукты пиролиза. Актуальной задачей является внедрение ПГХ-МС в аналитическую практику в области контроля качества и безопасности пищевых продуктов.

Широкое применение комплекса хроматографических методов в пищевой промышленности обеспечивает полноценный контроль химического состава конечных продуктов и биотехнологических процессов на разных стадиях их производства и хранения [13, 17, 18].

Особенно важная роль хроматографических методов принадлежит контролю минорных аналитов: биологически активных веществ, витаминов, пищевых добавок, экотоксикантов и контаминантов, в выявлении аутентичности продукции. Для этих целей в аналитических лабораториях необходим набор хроматографических приборов ГЖХ, ИХ, ВЭЖХ, способных обеспечить этот контроль.

Наиболее эффективно сочетание хроматографических методов разделения с масс-спектрометрическим детектированием. Перспективным методом для анализа пищевых продуктов является пиролитическая газовая хроматография с МСД, однако не следует отказываться от детекторов, зарекомендовавших себя в рутинных анализах: ПИД, ДЭЗ – в газовой хроматографии, РМД, СФД – в ВЭЖХ, ЭХД - в ионной хроматографии и электрофорезе.

## **1.2. Дифференциальный термический анализ и дифференциальная сканирующая калориметрия в определении качества пищевой продукции**

«Сенсорные свойства, особенно текстура и внешний вид продуктов на основе молочного жира, таких как сливочное масло, сливки, сыр, мороженое и молочный шоколад, в значительной степени зависят от физических свойств продукта, особенно свойств, определяемых фазовыми переходами жира, под которыми, прежде всего, понимаются плавление и кристаллизация, кристаллический полиморфизм и микроструктура. То же самое можно сказать о функциональных свойствах молочного жира, фракций молочного жира и продуктов на основе молочного жира, когда они используются в качестве пищевых ингредиентов» [68].

Термин *физические свойства* используется нами для обозначения физических свойств как таковых (например, плотности), так и характеристик, которые могут быть измерены физическими средствами (например, полиморфный тип). Измерение физических свойств имеет важное значение для правильного понимания и контроля технологических операций, а также сенсорных свойств, функциональности и стабильности при хранении готового продукта. Методы измерения реологических свойств и плотности масложировой продукции описаны в [68-71].

Большой потенциал в определении теплофизических свойств продукции из молочного жира имеет термический анализ, реализованный в методах дифференциального термического анализа (ДТА) и более продвинутой дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) [68-83].

«Молочный жир представляет собой сложную и изменчивую смесь триацилглицеринов (ТАГ) с различными липоидными минорными компонентами (фосфолипидами, жирорастворимыми витаминами и др.)»[5]. «Это ценный продукт переработки коровьего молока, один из наиболее распространённых в кулинарии животных жиров, основная фаза (дисперсионная среда) в сливочном масле, которое с физико-химической точки зрения является эмульсией типа «вода в масле». Сливочное масло разных сортов содержит 50-82.5 % молочного жира (чаще – 72.5-82.5 %; в топлёном масле – около 99 %). Молочный жир состоит преимущественно из ТАГ, содержащих остатки различных насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Основная доля приходится на олеиновую, пальмитиновую, миристиновую и стеариновую кислоты. Имеются полиненасыщенные незаменимые кислоты – линолевая, линоленовая и арахидоновая. Присутствие заметного (7-8 % в сумме) количества низкомолекулярных жирных кислот (масляной, капроновой, каприловой и каприновой) – отличительная особенность химического состава ТАГ молочного жира, другие животные жиры и растительные масла содержат низкомолекулярные кислоты в меньших

количествах. Содержание насыщенных жиров в молочном жире может достигать  $\approx 70\%$  [70].

Каждый ТАГ, и даже полиморф данного ТАГ имеет свою характерную температуру плавления. Полный диапазон температур плавления ТАГ составляет приблизительно от  $-40$  до  $72^\circ\text{C}$ . Однако диапазон температур плавления самого молочного жира составляет примерно от  $-40$  до  $37^\circ\text{C}$ , поскольку компоненты с более высокой температурой плавления растворяются в расплавленных фракциях с более низкой температурой плавления. Определение точек плавления и затвердевания молочного жира представляет собой способ количественно определить верхнюю границу диапазона температур плавления молочного жира. Результат, полученный в ходе измерения, зависит от используемого метода. Например, методом ДСК измеряется разница между тепловым потоком (Дж/с или Вт) к образцу и эталонному материалу или от него как функция температуры или времени, при этом и образец, и эталонный материал совместно подвергаются контролируемому воздействию. Таким образом, ДСК является одним из вариантов дифференциального термического анализа (ДТА). В качестве эталонного материала выбирается такой, который не проявляет термически индуцированных переходов в интересующем температурном диапазоне. Таким образом, переходы, которые происходят в образце во время применяемой температурной программы, отображаются в виде пиков или впадин, в зависимости от того, являются ли они экзотермическими или эндотермическими, на термограмме - графике зависимости дифференциального теплового потока от температуры, который является выходным сигналом прибора (рис. 1.2) [69].

ДСК может использоваться для идентификации жировых компонентов смеси жиров путем сравнения термограммы смеси с термограммами отдельных жиров. Этот подход использовался для выявления фальсификации молочного жира пальмовым маслом, маргарином, животными жирами [69-77].

ДСК молочного жира демонстрирует наличие полиморфизма, термограммы для образцов, подвергнутые термической обработке различными способами, имеют различную форму [69-70]. Пики и впадины, обусловленные эндо- или экзоэффектами полиморфных переходов фиксируются при разных температурах, с разной интенсивностью. Комбинация изотермического и нагревательного ДСК-сканирования может быть использована для детального изучения полиморфного поведения. Полиморфное поведение молочного жира усложняет интерпретацию термограмм, полученных для молочного жира, фракций молочного жира и молочных продуктов с высоким содержанием жира [69-70].

Скорость нагрева или охлаждения, используемая в ДСК, а также режим предварительного кондиционирования могут влиять на поведение жира. Поэтому необходимы для воспроизводимости и интерпретируемости результатов измерений теплофизических свойств тщательный выбор и контроль условий эксперимента. Результаты, полученные с помощью ДСК при нагревании, в значительной степени не зависят от таких явлений, как перенасыщение, переохлаждение, тогда как эти явления происходят при охлаждении. Несмотря на это, возможно, самый простой подход заключается в том, чтобы полностью расплавить образец перед термическим анализом, чтобы стереть всю «тепловую память», а затем провести охлаждающее ДСК-сканирование [69].

По мнению некоторых специалистов термограммы охлаждения более воспроизводимы и их легче интерпретировать, поскольку во время охлаждения происходит только экзотермическая кристаллизация; сканирование при нагреве является более сложным, поскольку в дополнение к эндотермическому плавлению могут происходить полиморфные превращения [79]. Тем не менее, сканирование осуществляют как при нагревании, так и при охлаждении [69-83].

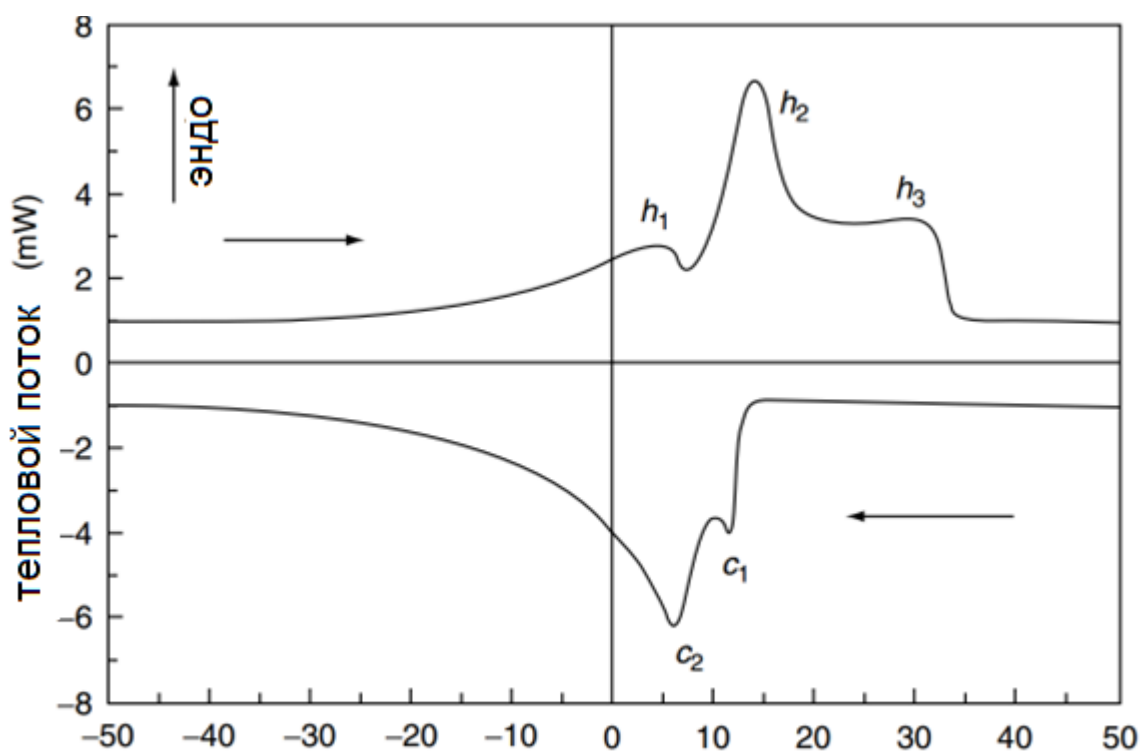


Рис. 1.2. Типовая термограмма молочного жира:  $c_1$  и  $c_2$  – экзотермические пики кристаллизации, полученные при охлаждении;  $h_1$ ,  $h_2$  и  $h_3$  - эндотермические пики, полученные при нагревании [79].

Сравним возможности методов термического анализа, а именно дифференциального термического анализа (ДТА) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) для контроля качества сливочного масла и обнаружения фальсификации. Оба эти метода нашли применение в аналитическом контроле масложировой продукции, но их потенциал далеко не в полной мере реализован в лабораторной практике. В ДТА используется принцип динамического измерения разницы температур между анализируемым образцом и эталоном при нагреве или охлаждении. Прибор определяет эндотермические и экзотермические тепловые потоки при программируемом изменении температуры во времени. Эти потоки являются результатом физико-химических изменений образца жира при нагреве или охлаждении. Метод ДТА позволяет регистрировать разность температур исследуемого вещества и эталона в зависимости от температуры или времени,

при этом измеряется разница температуры образца и эталона в течение времени или температуры, когда они подвергаются одинаковой программе теплового воздействия. По изменению температуры и теплоты плавления, точки плавления и кристаллизации жировой фазы можно эффективно отличать чистый молочный жир от немолочных жиров и смесей молочного и немолочных жиров [69-83] путем сравнения параметров термограмм. Метод ДСК позволяет регистрировать энергию, необходимую для выравнивания температур исследуемого образца и эталона в зависимости от температуры или времени [71]. Измеряемые величины – абсолютная температура образца и разница температур, возникающая между образцом и эталоном, пропорциональная разности теплового потока между ними. ДСК отличается от ДТА тем, что позволяет регистрировать тепловой поток, который характеризует происходящие в веществе изменения в результате нагрева или охлаждения. В этом методе образец и эталон нагреваются или охлаждаются с одинаковой скоростью, причем их температуры поддерживаются одинаковыми. Экспериментальные кривые представляют собой зависимость теплового потока от температуры. По внешнему виду кривая ДСК очень похожа на кривую ДТА, за исключением принятых единиц измерения по оси ординат.

«Методы ДСК и ДТА дают похожие в целом результаты и отличаются друг от друга лишь способом регистрации сигнала, однако метод ДСК более воспроизводим и более точен, поэтому предпочтительнее в термическом анализе жиров» [71].

В качестве эталона применяют обезвоженное вазелиновое масло.

«В качестве критериев натуральности молочного жира могут быть использованы температура, при которой наблюдается максимум термического эффекта, и интегральная площадь пиков на кривой плавления или кристаллизации:  $h_1$ ,  $h_2$  и  $h_3$ ,  $c_1$  и  $c_2$  (рис.1.2)» [79]. Как показано в [79], метод ДТА вполне пригоден для технологического контроля вносимых в комбинированный жировой продукт добавок. С увеличением массовой доли

заменителя, например пальмового масла, площади характерных для молочного жира пиков на термограмме симбатно уменьшаются, одновременно наблюдается смещение их максимумов в низко- или высокотемпературную область. Заменители молочного жира (ЗМЖ) имеют эндо- и экзотермические пики, смещенные по области температур и отличающиеся от молочного жира по величине теплового эффекта. Так, при добавлении пальмового масла в молочный жир интенсивность пиков при температуре  $t_1=15-20$  °С и температуре  $t_2=29-34$  °С падает, при этом максимум  $t_1$  смещается влево в область более низких значений. У целого ряда ЗМЖ этот максимум наблюдается при  $7-12$  °С и может быть выражен слабее, чем для молочного жира [71-77]. В то же время для других ЗМЖ, напротив, характерно смещение пика  $t_1$  в сторону более высоких температур. Сопоставление данных ДТА, ГЖХ и ВЭЖХ [78-79] показало, что контроль по кривым ДТА может указывать на наличие в молочном жире ЗМЖ даже при концентрациях, не приводящих к существенным отклонениям от концентраций жирных кислот в молочном жире, регламентируемых ГОСТ 31663-2012 «Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот». Если основной жирно кислотный состав в ЗМЖ еще можно близко подогнать под состав натурального молочного жира, то триглицеридный состав, от которого зависят теплофизические свойства жиров, гораздо сложнее, такой ЗМЖ будет слишком дорогой альтернативой.

Таким образом, метод ДТА хорошо дополняет метод ГЖХ, он отличается простотой подготовки пробы, высокой чувствительностью теплофизических свойств жиров к изменению химического состава. К достоинствам метода ДТА можно отнести возможность брать большие массы навесок (до 5 г), что важно для неомогенных материалов, а также легкое позиционирование образца. Вместе с тем следует отметить, что между термопарой и тиглем имеется только точечный контакт, наблюдаются сравнительно низкая воспроизводимость базовой линии, низкая точность при определении энтальпии, ограниченная воспроизводимость и точность

градуировки энтальпии, значительное влияние на теплообмен конвекции и излучения. Метод ДТА позволяет получить данные о температурах и знаках фазовых переходов, но этим методом трудно получить точную количественную информацию об образце или теплоте фазового перехода. Трудности обусловлены тем, что часто неизвестны такие важные факторы, как удельная теплоемкость и теплопроводность образца до и после фазового перехода, другие экспериментальные параметры. Еще одна проблема состоит в том, что оборудование, работающее в области фазовых переходов только твердых жиров, не производится серийно. Серийные приборы ДТА работают в излишне широком диапазоне от  $-150$  до  $+700$  °С, что заметно повышает их цену. Серийные приборы для ДСК также рассчитаны на универсальные термические измерения при  $-50 \dots +900$  °С и также являются дорогостоящим оборудованием. Вместе с тем, в приборах ДСК термопара имеет контактную площадку, они демонстрируют высокую воспроизводимость базовой линии, возможна их точная градуировка (для температуры и энтальпии), они точно определяют значения теплоты реакций и удельную теплоемкость, характеризуются быстрым теплообменом, малой постоянной времени прибора и малым влиянием конвекции и излучения [68]. Для них рекомендуется сравнительно малая масса образца (до 2 г), необходимо тщательное позиционирование образца и тигля. В работе [74] методом ДСК изучены теплофизические свойства молочного жира и его смесей с пальмовым маслом. Было установлено, что добавление пальмового масла к молочному жиру приводит к изменению кривой плавления, площади наблюдаемых пиков и смещению температуры для их максимумов, что выше нами отмечено в термограммах ДТА. Автор работы [74], проведя регрессионный анализ результатов измерения тепловых эффектов от со держания пальмового масла, пришел к заключению, что метод ДСК пригоден для количественной оценки фальсификации сливочного масла пальмовым. Градуировочные уравнения имели степень парной корреляции  $R=0,999$ . В работе [70] методом ДСК исследованы кривые плавления и кристаллизации 17 образцов растительных

масел, все они имели индивидуальные профили, позволяющие по данным ДСК проводить их надежную идентификацию. Параллельно методами ГЖХ и ВЭЖХ изучен жирнокислотный и триглицеридный состав образцов, определено йодное число. Как правило, образцы масла с высокой степенью насыщенности (низким значением йодного числа) имели тепловые эффекты в профилях плавления и кристаллизации в областях более высокой температуры, чем образцы масел с высокой степенью ненасыщенности (высокое йодное число). В работе [73] изучали, как изменяются кривые ДСК молочного жира от добавления в него говяжьего жира и маргарина. Было показано, что добавки говяжьего жира или маргарина в количестве 10–20 % легко обнаружить по градуировочным зависимостям. В работе [75] детально изучены кривые ДСК смесей молочного жира с гидрогенизированными кокосовым и хлопковым маслом. Параллельно для интерпретации результатов был использован метод импульсного ЯМР, с помощью которого контролировали содержание твердого жира. Эти методы хорошо дополняют друг друга. Совместные исследования жиров и масел методом ДСК и импульсного ЯМР показывают, что даже незначительные изменения состава могут быть зафиксированы и учтены. Можно ли обнаружить *транс*-изомерные жирные кислоты термическим анализом? Для ТАГ характерны полиморфные превращения, они могут иметь в кристаллическом состоянии конформации вилки, кресла, стержня, которые конкурентно переходят друг в друга в жидком состоянии. В зависимости от соотношения этих конформаций и состава ТАГ жиры отличаются по теплофизическим свойствам. Наиболее устойчивые конформации *транс*-ненасыщенных жирных кислот отличаются от конформаций *цис*-ненасыщенных жирных кислот. Это приводит к тому, что температуры плавления ТАГ, содержащих остатки *транс*-ненасыщенных кислот, выше, чем у ТАГ с *цис*-изомерными жирными кислотами с тем же числом атомов углерода. Отсюда следует ожидать, что при наличии заметного количества *транс*-изомерных кислот в жире будет наблюдаться смещение максимумов пиков в высокотемпературную область. Чувствительность

методов ДТА и ДСК к *транс*-изомерам, по всей видимости, целесообразно проверить.

Следует отметить появление специализированных бюджетных приборов ДСК для термического анализа жиров. Так, в статье [83] описана опытная установка «Термоскан». «Данный прибор позволяет проводить исследования жиров различного происхождения по термическим эффектам в интервале температур от  $-9$  до  $+60$  °С в процессе нагрева и охлаждения. Были получены дифференциальные термограммы процесса нагрева и охлаждения молочного жира, свиного жира и жировой смеси «СОЮЗ 71Э»[83]. Определены два участка с экстремальными точками в процессах нагрева и охлаждения. Показано, что такой прибор и методика термосканирования могут применяться в лабораторных исследованиях жиров и их смесей для определения аутентичности и контроля теплофизических свойств жировых композиций» [83].

### **1.3. Применении цифровой цветометрии в контроле пищевой продукции**

Метод цифровой цветометрии (ЦЦМ) – Digital Color Analysis (DCA) – «цифровой анализ цвета», входит в линейку оптических методов, он представляет собой альтернативу классической спектрофотометрии, не требующей дорогого инструментального воплощения (см. схему на рис.1.3). ЦЦМ предполагает анализ либо окрашенных образцов, либо проб, окрашенных в результате хромофорной реакции. ЦЦМ основан на получении и анализе параметров цветности цифрового изображения анализируемого образца. Величина аналитического сигнала оценивается по значениям цветометрических характеристик анализируемого образца (координаты цвета в различных системах, насыщенность цвета, яркость, светлота, белизна, цветовой тон и др.) [10]. Для представления и описания цвета цифровых изображений применяются такие цветовые модели, как RGB, CMYK, XYZ,

HSB и CIELAB [10,84-86]. Наибольшее применение в аналитике получила аддитивная цветовая система RGB, которая используется для компьютерной обработки изображений в стандартном программном обеспечении: графические редакторы (Adobe Photoshop, Photo-paint, ImageJ и др.), в универсальных математических пакетах с возможностью работы с цифровым изображением на уровне пикселей (MatLab, Mathcad) [10 и цитируемая в источнике литература].

ПО используемое для оценки параметров цветности электронных изображений на мобильных цветорегистрирующих устройствах (смартфонах) разнообразно и доступно в качестве бесплатного или условно бесплатного: Color Picker AR, Color Detector – Палитра цветов и распознаватель, Color Picker (компания Mikhail Gribanov), Color Grab – Определение цвета, Color Picker (компания Ratonera Inc), Color Lab, Pixolor, RGB Color Detector, Color Harmony, Color Detector (компания obialia.com), ColorMeter Free - Color picker (компания Xiaozhao inc), MixPaint, Color Detector & Catcher, Color Code Picker, Color Picker Color Picker (компания Black Developers), Color Analyzer и др.) [84-100].

Как показано в [84-100], ключевыми преимуществами ЦЦМ перед визуально-колориметрической экспертизой или некоторыми оптическими методами анализа, являются объективность определения, отсутствие требования сколько-нибудь высокой квалификации лаборанта-оператора, возможность хранения и передачи первичных данных в электронном формате и их обработки с помощью программного обеспечения, устанавливаемого не только на лабораторных компьютерах, но и, например, непосредственно на мобильном устройстве, возможность регистрировать параметры цвета жидких, твердых и пастообразных образцов.

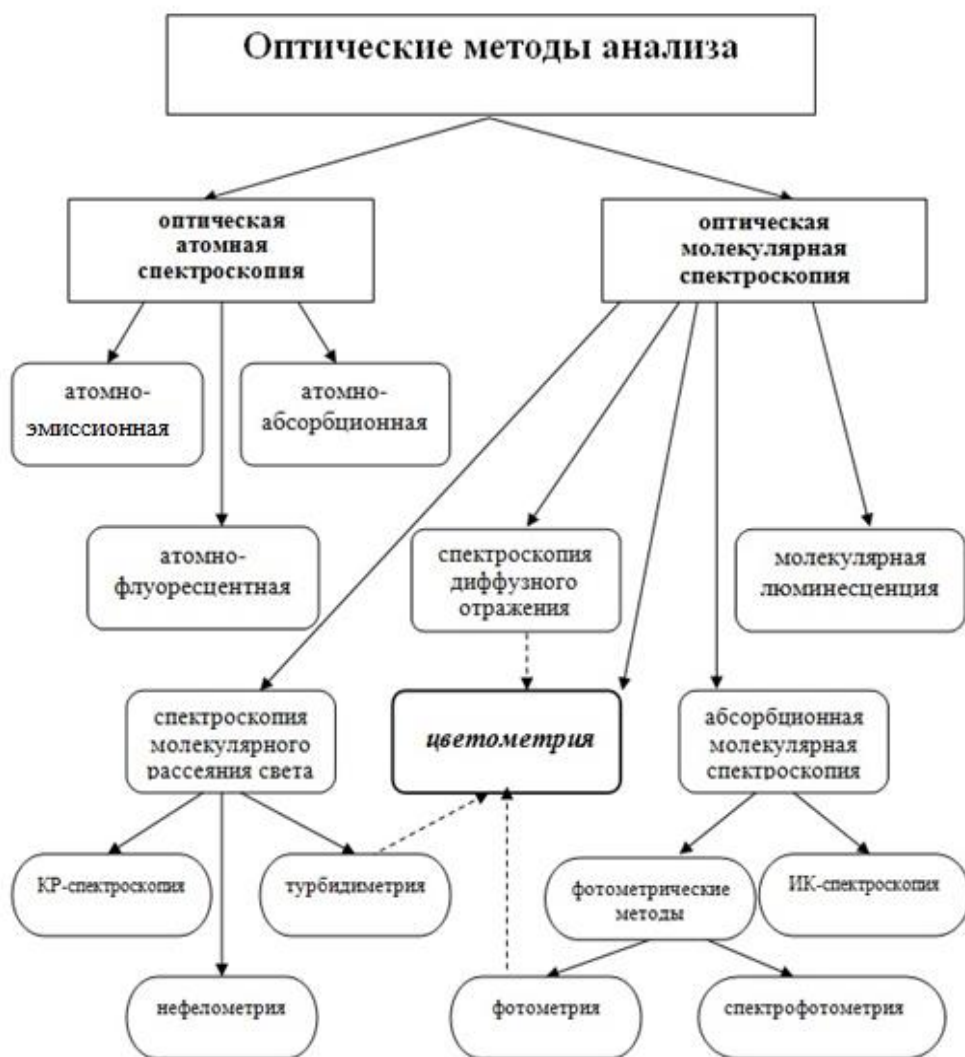


Рис.1.3. Оптические методы анализа

При этом стоимость единичного анализа остается невысокой, сохраняется экспрессность выполнения измерений.

С 2000 года наблюдается более чем 20-кратный рост публикаций, посвященных использованию ЦЦМ в аналитической химии, фармацевтическом анализе, контроле качества и безопасности продукции [84-86]. В них прослеживается четкая тенденция все более активного применения в тестировании продукции смартфонов с цифровыми фотокамерами. По прецизионности и другим метрологическим характеристикам ЦЦМ практически не уступает оптическим методам, применяемым в химическом анализе материалов [84-86]. Правда, следует отметить, что не до конца решен вопрос о правильности цветопередачи в электронных изображениях,

полученных на разных устройствах при разном освещении. Поэтому необходимо в каждом отдельном случае пользоваться стандартизированными шкалами цвета, образцами сравнения, градуировками отдельных устройств в конкретных условиях регистрации аналитического сигнала. Цветовые системы и техника проведения эксперимента методом ЦЦМ с применением различных цветорегистрирующих устройств описаны в [84-86]. Таким образом, существенную помощь экспертам, оценивающим внешний вид продукции «на глазок», могут оказать методики цифровой цветометрии. Рассмотрим такую цветовую характеристику как белизна, которая в значительной степени является величиной субъективной.



Рис.1.4. Плоская диаграмма цветового пространства аддитивной системы RGB

Белизна – обязательная интегральная характеристика многих продуктов питания, например, муки, сахара и т.п. Оценка качества и подлинности продукции методом ЦЦМ производится путем сравнения интегральной характеристики цвета с эталонными образцами, так называемыми образцами сравнения. Имея электронную базу данных по цвету образца сравнения, полученную в стандартизованных условиях, можно избежать субъективности в определении цвета, которая возможна при визуальной экспертной оценке [10, 84-100].

Интенсивностям компонент цветности  $F_R$ ,  $F_G$  и  $F_B$  присвоены значения от 0 до 255 [10]. «Любой цвет в системе RGB равен сумме  $F_i$  трех независимых

цветов: красного (R), зеленого (G) и синего (B); чем больше эта сумма, тем выше степень белизны. Черному цвету соответствует триплет значений  $F_R$ ,  $F_G$  и  $F_B$  (0;0;0), а белому – триплет (255; 255; 255)»[10].

«Модель RGB является самой распространенной, она хорошо соотносится с человеческим зрением (сетчатка глаза имеет красно-, зелено- и синечувствительные волокна). При смешивании 3 базовых цветов в различных пропорциях, можно получить более 16 млн цветовых оттенков» [10].

В качестве образца сравнения (ОС) часто используют сульфат бария, применяемый как эталон белизны, например, при измерении этого показателя сортов муки, сахара, таблетированных фармпрепаратов.

Для количественного выражения белизны, т.е. степени приближения к белому цвету ОС, в [88-91], например, применяют значение относительной белизны  $W$ , которое равно отношению суммы интенсивностей R, G и B для пробы и ОС (сульфата бария):

$$W=(F_R+F_G+F_B)/(F'_R+F'_G+F'_B)=\sum F_i/F'_i,$$

где  $F_i$  – интенсивности цветов в системе RGB анализируемой пробы,  $F'_i$  – интенсивности цветов в системе RGB образца сравнения.

Нормативы диапазонов относительной белизны пригодны для экспресс-анализа в технологических этапах процесса производства, а также в контроле качества готовой продукции, для наблюдения за динамикой старения продукции при ее хранении. Методики ЦЦМ отличаются хорошей воспроизводимостью, но несколько большей погрешностью измерений, чем другие оптические приборы (например, белизномеры), что для экспресс-тестов не принципиально. Следует отметить, что образцы муки и сахара перед регистрацией видеосигнала измельчают до порошка [88].

Что касается пищевой продукции, цветовые характеристики сырья и готовой продукции не редко являются одной из важнейших органолептических характеристик, фигурирующих среди контролируемых показателей в нормативной документации - ГОСТ, ТУ, ТИ и др., поскольку он служит четким индикатором малейших изменений технологии получения и

условий хранения продукции. Например, контроль белизны молока по компонентам цветности RGB показывает заметные различия качественного и некачественного молока [90]. Установлено, что белизна образцов молока может значительно отличаться от эталонной, особенно низкими были значения интенсивности синей компоненты, в меньшей степени это относится к интенсивности красной и зеленой компоненты.

Цифровые цветометрические методики позволяют оценивать цветность мазей, суспензий, эмульсий, масел, что невозможно для классической спектрофотометрии. ЦЦМ более информативна, доступна, экспрессна и мобильна (в случае применения смартфонов в качестве цветорегистрирующего устройства). Кроме того, что он отличается простотой исполнения, доступностью аппаратуры и бесплатного программного обеспечения, метод ЦЦМ имеет удовлетворительные метрологические характеристики (относительная погрешность определения не превышает 8%) [91-100].

Разработаны методики ЦЦМ для оценки цветности масел, применяемых в пищевой промышленности и в фармацевтике [92-93]. Масла растительного и природного происхождения используются не только в производстве пищевых продуктов, но и в качестве основы для приготовления мазей, эмульсий, суспензий, масляных растворов, и применяются как системы, содержащие БАД. При определении качества масел в первую очередь оценивается их цветность, которая зависит от природы масла и степени его очистки. Интенсивность окраски характеризуется цветным числом  $Z$  (безразмерная величина в диапазоне от 0 до 100), определяется путем сравнения интенсивности окраски исследуемого масла с окраской стандартных растворов йода согласно ГОСТ 5477-2015 визуально.

Цветное число растительных масел является обобщенной (интегральной) характеристикой, обусловленной наличием в них липоидных компонентов – каротина, ксантофиллов, хлорофиллов, фосфолипидов, госсипола и других липофильных веществ. Интенсивность окраски (цветное

число) масла, как правило, обратно пропорционально степени их очистки методами рафинации, отбеливания и др. Рафинированные, дезодорированные масла высшего сорта, используемые в пищевой отрасли, должны иметь значение цветного числа меньше 6, обычные сорта – до 10, нерафинированные – от 15 до 35. Для некоторых нерафинированных масел, применяемых в качестве БАД, показатели цветности не нормированы, так как эти масла не подвергаются очистке от природных компонентов, являющихся биологически активными веществами. Для них цветность определяется качественно. Часто они могут иметь большие цветные числа. В фармакопейных статьях рекомендуют сравнивать цвет масел со стандартными образцами растительных масел [93].

В целом отмечается хорошее совпадение результатов определения цветного числа методом ЦЦМ, визуальным и спектрофотометрическим методом. Применимы также методики ЦЦМ, основанные на измерении не суммы, а интенсивности какой-либо одной из трех цветовых компонент. Например, используют зависимости одной из компонент цветности от содержания окрашенного вещества в растворе для градуировки. Если вещество не поглощает в видимой области спектра, тогда подбирают хромофорную реакцию на это вещество и находят корреляцию между компонентами цветности раствора и концентрацией аналита. Анализ растворов проводят в кюветах для спектрофотометров, соблюдая единые условия регистрации файлов, например, в специальных боксах, оснащенных кюветодержателем, подсветкой диодными лампами и белым экраном [84].

Таким образом, можно использовать не только собственную окраску веществ, но и продукты хромофорной реакции для неокрашенных веществ. Проведенные эксперименты для серии лекарственных препаратов [85], растворы которых были окрашены с помощью хромофорных реакций, показали возможность использовать типовые цветные фармакопейные тесты для количественного определения аналитов. Зависимости интенсивности компонент цвета от концентрации аналита имеют более широкие линейные

диапазоны, чем оптические плотности в спектроскопии. ЦЦМ применим и для фармакопейных реакций с образованием флуоресцирующих продуктов [91]. Если использовать для анализа неокрашенных веществ не одну, а две и более хромофорных реакций, то можно получить набор аналитических сигналов как для мультисенсорного устройства, которые обрабатываются хемометрически как многомерный массив данных.

Примером может служить ЦЦМ-определение аминокислот, инсулина по двум хромофорным реакциям: с нингидрином и щелочным раствором гидроксида меди (биуретовая реакция) [94]. Результаты параллельного определения  $F_i$  окрашенных растворов представляются в виде лепестковых диаграмм. Форма диаграмм служит для качественной идентификации, а периметр (P) и площадь (S) диаграмм для количественных измерений концентраций аналитов. Увеличение периметра P и (или) площади S наблюдаются для более светлых растворов, то есть, обратно пропорционально концентрации аналита.

Разработаны алгоритмы расчета геометрических параметров лепестковых диаграмм (P и S), полученных методом ЦЦМ, и распознавания по ним контролируемого аналита, а также количественного определения. Приведенные подходы применяются к контролю БАВ, фенолов и других контаминантов в пищевой продукции [100].

ЦЦМ перспективен в контроле продукции из мяса, оценке полноценности белкового состава, содержания аминокислот, нитритов, нитратов, пигментов, а также целого ряда контаминантов [84-100].

Таким образом, можно отметить следующие аспекты применения цифровой цветометрии: 1) доступность оборудования для анализа и средств для обработки аналитического сигнала; 2) экспрессность анализа; 3) высокая чувствительность; 3) низкий расход реактивов и низкая стоимость единичного анализа; 4) возможность анализа твердых и жидких образцов, концентрированных, разбавленных и непрозрачных растворов; 5) метрологические характеристики, сопоставимые с оптическими методами

анализа; б) удобство документирования и хранения электронных изображений в виде файлов, их статистикой обработки и передачи по интернету в любую лабораторию или службу.

Таким образом хроматографические методы в целом при использовании их в комплексе могут установить покомпонентный состав масложировой продукции, выявить ее натуральность или идентичность, или установить факт фальсификации. Применение пиролитической газовой хроматографии в тандеме с масс-спектрометрией упрощает пробоподготовку и позволяет по удерживанию летучих продуктов и продуктов пиролиза, а также по базе данных масс-спектров надежно идентифицировать аутентичность образца продукции.

Метод ДСК хорошо дополняет хроматографические методы характеристики продукции, в то же время он является самостоятельным методом контроля качества и теплофизических свойств масложировой продукции. Термограммы ДСК чувствительны к тонким изменениям химического состава и по ним также можно судить о натуральности или аутентичности (подлинности) жировой фазы.

Использование цифровой цветометрии полезно на этапе предварительного контроля качества продукции, определении цветных чисел масел, в проявительном варианте ТСХ при использовании хромофорных реакций.

Комплексный подход в анализе продукции пищевой промышленности позволяет надежно охарактеризовать подлинность продукции, ее качество и безопасность. Особенно важной составляющей этого подхода является применение не только референтных методик анализа, но и применение методик, использующих альтернативные аналитические сигналы, подтверждающие выводы, сделанные при применении стандартных способов определения компонентов продукции.

## Глава 2. Объекты и методы анализа

### 2.1. Хроматографическое оборудование и методики выполнения измерений

Для проведения исследований аналитов метанол, кротоновый альдегид, бисфенол А, растительные масла и молочный жир методом газовой хромато-масс-спектрометрии использовали газовый хроматограф Agilent 8890 (США) с квадрупольным масс-селективным детектором Agilent GC/MSD 5977B, с системой автоматического ввода пробы Agilent G4513A и многофункциональным пиролизером EGA/PY-3030D (Япония). В качестве газа-носителя использовали гелий, скорость потока через колонку 1.0 см<sup>3</sup>/мин.

Хроматографическое определение БФА проводили на термически стабильной металлической капиллярной колонке с неполярной неподвижной фазой Ultra ALLOY®-5 UA5-30M-0.25F, а для летучих метанола и кротонового альдегида использовали капиллярную колонку высокой полярности HP-FFAP с фазой полиэтиленгликоль, модифицированный нитротерефталевой кислотой. Обработку измерений выполняли с использованием программного обеспечения, входящего в состав хроматографического комплекса. Аналитические определения для каждой пробы проводили не менее, чем в трехкратной повторности. Для взятия навесок применяли аналитические весы неавтоматического действия GR200 (Analog & Digital, Япония) с погрешностью не более  $\pm 0.0001$  г. Для приготовления модельных растворов использовали Бисфенол А квалификации х.ч. (Sigma-Aldrich, США) с содержанием основного вещества не менее 99.6%. Растворы с концентрациями 0.6, 0.4 и 0.2 мг/дм<sup>3</sup> получали методом разбавления раствора БФА с концентрацией 1.2 мг/дм<sup>3</sup> в 2, 3 и 6 раз соответственно.

В качестве объектов исследования для подбора оптимальных режимов ГХ-МС использовали модельные растворы БФА и спиртовые экстракты образцов пластиковой тары. Экстракты получали при температуре  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ .

Для исследования свободного БФА в пластике образец материала измельчали до частиц размера  $\sim 1 \times 1$  мм. Навеску измельченного образца помещали в плоскодонную колбу объемом 25 см<sup>3</sup> и дозатором вносили 10 см<sup>3</sup> этилового спирта, затем тщательно перемешивали в течении 10 мин с использованием вибрационного смесителя, после чего фильтровали через бумажный фильтр. Полученный раствор помещали в колбу с притертой крышкой. Пробу хранили при температуре  $(20 \pm 5)$  °С не более 8 ч. Идентификацию проводили сопоставлением полученных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки NIST 20. В качестве реальных объектов исследования использовали спиртные напитки, приобретенные методом случайной выборки в розничных торговых сетях и приготовленные в ходе настоящего исследования водно-спиртовые модельные растворы.

*Пиролитическая хромато-масс-спектрометрия молочного жира.* Для проведения исследований методом газовой хромато-масс-спектрометрии использовали газовый хроматограф Agilent 8890 (США) с масс-селективным детектором Agilent GC/MSD 5977В и многофункциональным пиролизером EGA/ PY-3030D (Япония). Хроматографическое разделение проводили на термически стабильной металлической капиллярной колонке с неполярной неподвижной фазой Ultra ALLOY®-5 UA5-30M-0.25F.  $T_{исп}$  300 °С. Программа термостата 40-320 20°/мин, газ гелий. Температура пиролизера 400 °С. Образец помещали в стальной тигель пиролизера. Масса пробы 0.001 — 0.0009 г. Время анализа 30 мин. Идентификацию проводили с использованием программного обеспечения Mass Hunter Workstation Qualitative Analysis (Version 10.0 Build 10.0.10305.0) и стандартной библиотеки спектров NIST 20.

## **2.2. Методики дифференциальной сканирующей калориметрии**

Образцы масла расторопши дикорастущей (РП) получены в лабораторных условиях в Дагестанском государственном университете методом сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода [184]. Перед получением плоды сушили в сушильном шкафу при 50°С, измельчали

на лабораторной мельнице ЛМ-201 до фракции 0.1–1.0 мм, выход фракции  $99.0 \pm 0.3\%$ . Масло получали с помощью лабораторной экстракционной системы модели SFE 1000M1-2-FMC 50 (Waters, США). Пробу измельченных плодов РП (40 г) помещали в автоклав объемом 200 мл и обрабатывали диоксидом углерода под давлением 400 бар при 40°C и скорости потока CO<sub>2</sub> 50 г/мин в течение 60 мин. Иодное число (NI) образцов масла РП определяли по стандартной методике [7].

Для проведения термического анализа использовали прибор синхронного термического анализа STA 449 F3 Jupiter® фирмы “NETZSCH” (Германия). Для анализа отбирали навески образцов масла массой 15–22 мг. Навеску с алюминиевым тиглем, накрытым алюминиевой крышкой, помещали в прибор, выполняли взвешивание. Затем температуру навески увеличивали до 60°C со скоростью 5 град/мин для полного расплавления образца и снятия “тепловой предыстории”. Теплофизические свойства измеряли в диапазоне температур от –150 до +50°C, скорость нагрева 5 град/мин. Систему охлаждали жидким азотом со скоростью охлаждения 1 град/мин для исключения рекристаллизации (холодной кристаллизации). Измерения выполняли в атмосфере гелия (расход продувочного газа 10 мл/мин, расход защитного газа 10 мл/мин). Точность измерения температуры составляла  $\pm 0.3^\circ\text{C}$ . Для повышения информативности термограмм, полученных методом ДСК, использовали программное разделение суперпозиции пиков тепловых эффектов, не накладывающихся друг на друга, в программе NETZSCH Peak Separation по алгоритму Gauss [71].

### **2.3. Методики цифровой цветометрии и ИК-спектроскопии**

Для определения цветных чисел масел методом цифровой цветометрии (ЦЦМ) в качестве объекта исследования использовали масла: абрикосовой косточки (изготовитель ООО «Ботаника», г. Москва, касторового (ОАО «Самарамедпром», г. Самара), репейного с добавкой касторового (ООО

Миролла Лаб, Ленинград. обл., п. Кузьмоловский), расторопши (ООО «Натуральные масла», Московск. обл., г. Солнечногорск), облепихи (ООО «Натуральные масла», Московск. обл., г. Солнечногорск). Изображения градуировочных растворов иода и образцов масел получали с применением смартфона Realme C11 2021 в режиме фотовспышки. Разрешение тыловой камеры 8 Мп. Искусственное освещение (300 люкс). Растворы и образцы масел помещали в 150 мм от смартфона в стандартные стеклянные кюветы для фотоколориметров,  $l=5.07$  мм. За и под кюветами применяли в качестве фона белую бумагу Valett Classic. Изображения обрабатывали в ПО для смартфона Color Picker 5.0.6. Для этого выделяли фрагмент изображения в виде круга диаметром 10 мм, регистрировали усредненные значения интенсивности компонент RGB. Для сравнения применяли визуальную методику оценки цветного числа и его спектрофотометрическое определение при 450 нм на приборе СФ-2000, в кюветах с  $l=1.0$  см.

Для определения фолиевой кислоты методом ЦЦМ в качестве объекта использовали аптечный препарат «Фолиевая кислота» с содержанием в 1 таблетке 1 мг фолиевой кислоты. Навеску препарата фолиевой кислоты растворяли в  $5.0 \text{ см}^3$  0.1 М раствора гидроксида натрия, приливали  $5.0 \text{ см}^3$  0.1 М раствора соляной кислоты и  $1.0 \text{ см}^3$  0.05 н раствора перманганата калия. Раствор помещали на водяную баню с температурой 80–85 С на 3 мин. В результате окисления перманганатом калия образуются птериновая кислота и *пара*-аминобензоилглутаминовая кислоты. После охлаждения к раствору прибавляли 6 капель 3% раствора пероксида водорода для удаления избытка перманганата калия и отфильтровывали образовавшийся диоксида марганца. Полученный фильтрат, содержащий птериновую кислоту, имеет голубую флуоресценцию в ультрафиолетовом свете при длине волны 365 нм [91].

Были приготовлены стандартные растворы из навесок препарата, соответствующие содержанию субстанции в 3, 5, 7, 10, 12 и 15 таблетках препарата. После проведения пробоподготовки стандартные растворы в кювете толщиной 1 см помещали в облучатель УФС 254/365. При длине волны

365 нм голубую флуоресценцию регистрировали с помощью смартфона Samsung Galaxy J7 SM-J730FM с камерой 13Мп.

Для идентификации и количественного определения БФА и фенола методом ТСХ совместно с ЦЦМ применили следующие условия, найденные ранее в [102]: «НФ – пластины марки Sorbfil (Краснодар), размером 12,5×5 см, сорбент – силикагель с зернением 47 5-12 мкм, ПФ хлороформ – этилацетат – уксусная кислота (50:50:1). В качестве проявителя для определения фенолов применяли 2 проявляющих реакции: 1) пластинку помещали в пары йода на 10 минут, после чего проявлялись желтые пятна; 2) пластинку опрыскивали с помощью стеклянного пульверизатора смесью хлорид железа (III) – феррицианид калия, бисфенол и фенол давали синие пятна.

Идентификацию хроматографических зон осуществляли по величинам  $R_f$  хроматографических пятен и по их цветометрическим характеристикам – интенсивностям отдельных цветовых компонент R, G, B электронных изображений, полученных в результате проявления пятен хромофорным реактивом, и по величине обобщенного показателя – периметру или площади лепестковой диаграмм, построенной по величинам интенсивности цветовых компонент R, G, B хроматографических пятен, окрашенных параллельно 2-мя хромофорными реактивами» [102].

*ИК-спектрометрическое определение смеси моно- и триглицеридов.*  
ИК-спектры зарегистрированы в Центре коллективного пользования Воронежского государственного университета на приборе ИК-Фурье-спектрометр исследовательский BRUKER VERTEX 70 с алмазным модулем Platinum ATR однократного нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО), угол 45°.

## **Глава 3. Быстрый скрининг методом газовой хромато-масс-спектрометрии контаминантов в продукции пищевой промышленности**

### **3.1. Экспрессный способ определения метанола в этиловом спирте и алкоголе методом газовой хромато-масс-спектрометрии**

В комплексном аналитическом контроле этанола, получаемого из пищевого сырья, дистиллятов, спиртных напитков и другой спиртосодержащей продукции алиментарного применения, первостепенной задачей перед аналитиками ставится обеспечение их безопасности, а именно, идентификация и определение содержания вредных примесей. Второй задачей является распознавание сорта, контрафакта, бракованной и фальсифицированной продукции. Содержание наиболее вредных для здоровья человека примесных компонентов (альдегиды, высшие спирты, метанол) строго регламентируется (ГОСТ 5962-2013, ГОСТ 32036-2013 и др.), при этом постоянно совершенствуется нормативная документация, ужесточаются требования к составу микропримесей пищевого этилового спирта. Параллельно этому развивается приборная база аналитического контроля качества и безопасности спиртовой продукции. Современное хроматографическое оснащение позволяет существенно снизить пределы обнаружения минорных примесей.

Как показано в обзоре (Глава 1), перспективным направлением исследований является выявление характерных наборов микропримесей, присущих пищевому, гидролизному и синтетическому этанолу из различных видов сырья. Объектом нашего исследования явился метанол, как наиболее опасный контаминант, встречающийся в спиртных напитках, особенно в фальсифицированной алкогольной продукции. Метанол, как известно, бесцветная ядовитая жидкость 2 класса опасности. Статистика публикаций, посвященных динамике острых отравлений метанолом в России и особенностям оказания экстренной медицинской помощи, зарегистрированных в РИНЦ – более 3500, указывает на высокую

актуальность исследований, посвященных разработке и внедрению в аналитическую практику самых передовых методик контроля этого контаминанта в спиртосодержащей продукции. На злободневность проблемы указывают и многочисленные случаи отравления фальсифицированными спиртными напитками, суррогатами, о которых становится известно из прессы. В СМИ и отчетах Роспотребнадзора РФ отмечается, что в России ежегодно фиксируются до 1200 отравлений метанолом, причем многие из них со смертельным исходом [103-114].

ГХ-МС, как показано в обзоре, стал наиболее перспективным в контроле качества и безопасности пищевого этанола. Гибридный метод ГХ-МС позволяет с высокой степенью достоверности идентифицировать по имеющейся базе данных по временам удерживания и масс-спектрам более 250 соединений, и, в первую очередь, метанол. Однако следует помнить при разработке методик, что возможны совпадения с высокой степенью вероятности не только времен удерживания, но и масс-спектров изомерных соединений [112], поэтому необходима проверка наложения хроматографических пиков и оптимизация условий хроматографирования.

Известен ГОСТ 33833-2016 «Напитки спиртные. Газохроматографический метод определения объемной доли метилового спирта», разработанный ВНИИПБТ. Данный межгосударственный стандарт принятый на территории Армении, Беларуси, Молдовы и России, распространяется на спиртные напитки с объемной долей этилового спирта от 7.0 до 60%: аперитивы, коктейли, бальзамы, джины, пунши, наливки, настойки (горькие, полусладкие, сладкие), десертные напитки, спиртные газированные и негазированные напитки, ликеры (крепкие, десертные, эмульсионные), кремы, ром, виски, текилу, спиртные зерновые дистиллированные напитки; и устанавливает газохроматографический метод определения объемной доли метанола. Он основан на методе ГХ-ПВД дистиллятов, полученных при перегонке этанола из исходного напитка.

Количественное определение метанола проводят методом абсолютной градуировки, идентификацию осуществляют по времени удерживания. Точность количественного анализа определяется воспроизводимостью площади пика. В диапазоне измеряемых концентраций от 0.003-0.006 % об. предел повторяемости при доверительной вероятности  $P=0.95$  составляет 25%, в диапазоне свыше 0.006 до 0.120 % об. включительно – 19 %. Приблизительное время удерживания метанола до данной методики составляет 4.5-5 мин, в зависимости от выбранных параметров хроматографирования.

Следует отметить, что метод ГХ-МС обладает некоторым преимуществом перед вышеописанным методом, так как он не требует для идентификации использования градуировочных растворов, а идентифицирует соединение путем определения его состава и строения и дальнейшим сравнением полученного масс-спектра со спектром из имеющихся библиотек. Кроме того, метод ГХ-МС позволяет различать вещества с перекрывающимися хроматографическими пиками. Таким образом, разработка референтной методики с применением ГХ-МС является важной задачей аналитической химии. Особенно важна идентификация метанола не столько в спиртных напитках, сколько в суррогатах алкоголя, в случаях острых отравлений с летальным исходом.

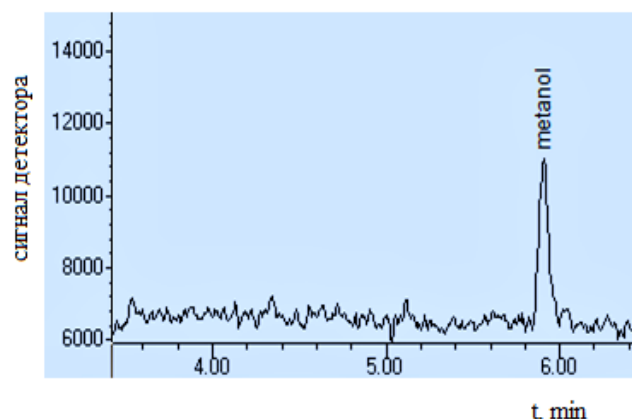
В 2008 г. были разработаны и аттестованы методические рекомендации Роспотребнадзора РФ «Хромато-масс-спектрометрическое определение метанола в стеклоомывающих жидкостях. Методические рекомендации МР 01.035-08», которые максимально близко соответствуют цели, поставленной нами, а именно, разработке экспрессного способа контроля содержания метанола в алкогольной продукции с применением ГХ-МС в качестве потенциально референтного для способа ГХ-ПИД (ГОСТ 33833-2016).

Количественный метод определения содержания метанола по МР 01.035-08 в стеклоомывающих жидкостях основан на переводе метанола из стеклоомывающих жидкостей в равновесную паровую фазу с последующим

ее анализом на газовом хроматографе с капиллярной колонкой и масс-селективным детектором. Нижний предел обнаружения в объеме пробы - 0,1 мг/см<sup>3</sup>. Определению не мешают вода, этанол и изопропанол. Ориентировочное время удерживания метанола составляет 3.4 мин. Критерием идентификации метанола является расхождение между временами удерживания пиков метанола в анализируемой пробе и в растворах стандартов не более 0.05 мин., а также совпадение библиотечного масс-спектра метанола с масс-спектром пика метанола в анализируемой пробе. Данная методика распространяется только на стеклоомывающих жидкости. Учитывая, что определению метанола в алкогольной продукции может мешать этилацетат, имеющий близкое время удерживания с метанолом, целесообразным является применение более длинных колонок, не 30 м, как в методике МР 01.035-08, а, например, 50 м. Кроме того в описанной выше методике градуировку выполняли для водных растворов, в случае алкогольной продукции целесообразно выполнять градуировку водно-спиртовых смесей. Спиртные напитки, в отличие от стеклоомывающих жидкостей имеют более сложный многокомпонентный состав летучих и нелетучих соединений (углеводы, пигменты, например), которые будут загрязнять хроматограф и детектор), поэтому необходима пробоподготовка (дистилляция/ отгонка), как по методике ГОСТ 33833-2016. Известны работы Савчука и др. [35-45]. Упомянутые исследования проведены в режиме скрининга, при этом в них использовали условия анализа ГХ-МС *не экспрессные*, так как их цель – выявление всего профиля примесей, характерных для непищевого спирта. Метанол рассматривался как один из возможных контаминантов.

Для подбора оптимальных режимов использовали модельные растворы с объемной долей метанола 0.120, 0.0062 и 0,0030 % об. в пересчете на безводный спирт. За основу взяли следующие условия анализа: режим программирования температуры колонки: начальная температура 60 °С, изотерма 10 мин, продолжительность анализа 10 мин. В ходе экспериментальных исследований варьировали параметры

хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования, оказывающие влияние на идентификацию метанола.

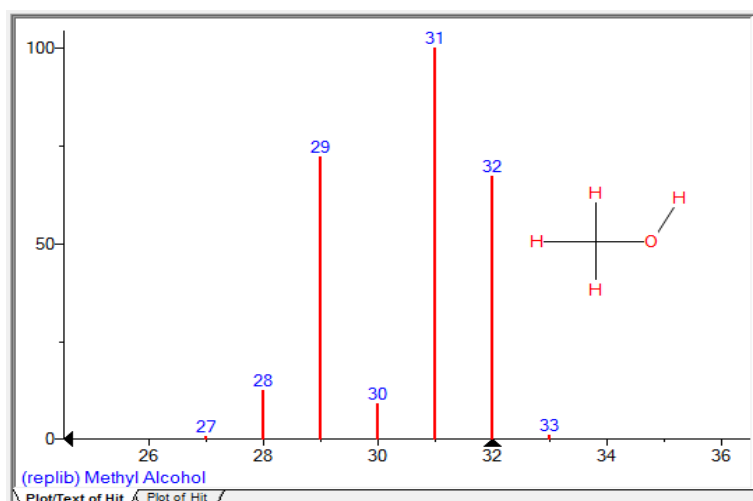


Подобранные условия приведены в экспериментальной части. На рис. 3.1 приведена хроматограмма модельного раствора метанола, из которой видно, что метанол регистрируется пиком симметричной формы на 5.9 мин. Следует отметить, что у гауссовых пиков высота прямо пропорциональна концентрации вещества в пробе. Таким образом, предложенный режимы перспективен для разработки методики количественного определения содержания метанола.

Рис. 3.1. Хроматограмма модельного раствора метанола

Рис.3.2. Масс-спектр метанола, полученный в данной работе (фрагмент)

Рис. 3.3. Масс-спектр метанола из библиотеки NIST 20 (фрагмент)



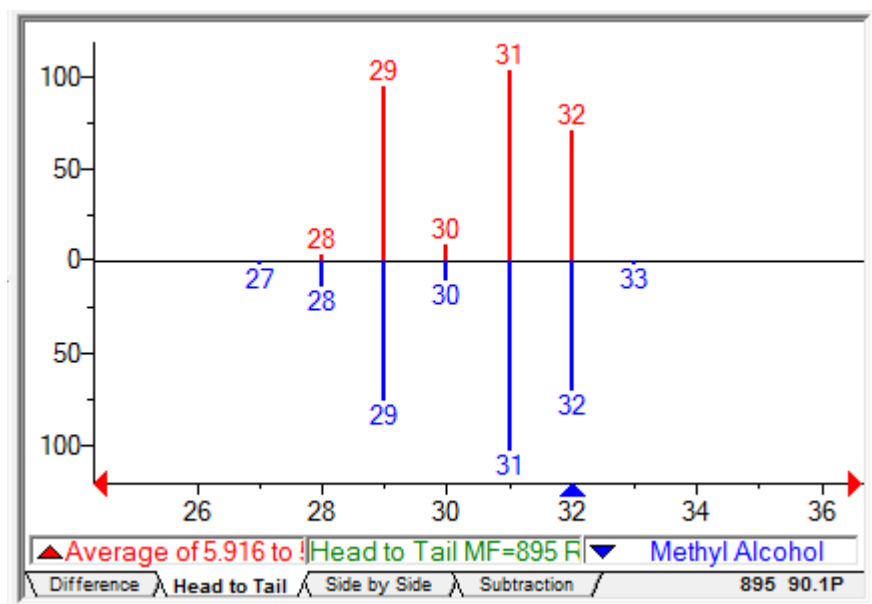


Рис. 3.4. Сравнение масс-спектров (нижний - библиотечный, верхний – эксперимент)

На рис. 3.4 экспериментальный и библиотечный спектры сопоставлены между собой, наблюдается хорошее совпадение - 92%.

В связи с тем, что спиртные напитки имеют вариативный многокомпонентный состав и могут содержать нелетучие компоненты, для предотвращения загрязнения масс-спектрометрической системы определение объемной доли метанола проводили в дистиллятах (отгонах), полученных после предварительной перегонки спирта из анализируемого спиртного напитка.

В ходе экспериментальных исследований при анализе дистиллятов, виски, рома, текилы и аперитивов выявлено хроматографическое наложение пиков метилового спирта и этилацетата, который может образовываться в результате реакции этерификации этилового спирта и уксусной кислоты. В экспериментальной части приведены именно откорректированные режимы анализа с учетом наличия этилацетата в анализируемых пробах. Для корректировки применяли водно-спиртовые модельные растворы, объемной долей этилового спирта от 7.0 до 70%, содержащие метанол и этилацетат. Аналогично алгоритму сопоставления масс-спектров метанола было

выполнено сопоставление масс-спектров этилацетата, полученного в ходе настоящего эксперимента с использованием масс-спектрометрической системы и библиотечного масс-спектра коммерческой библиотеки NIST 20, установлено совпадение масс-спектра этилацетата 89%.

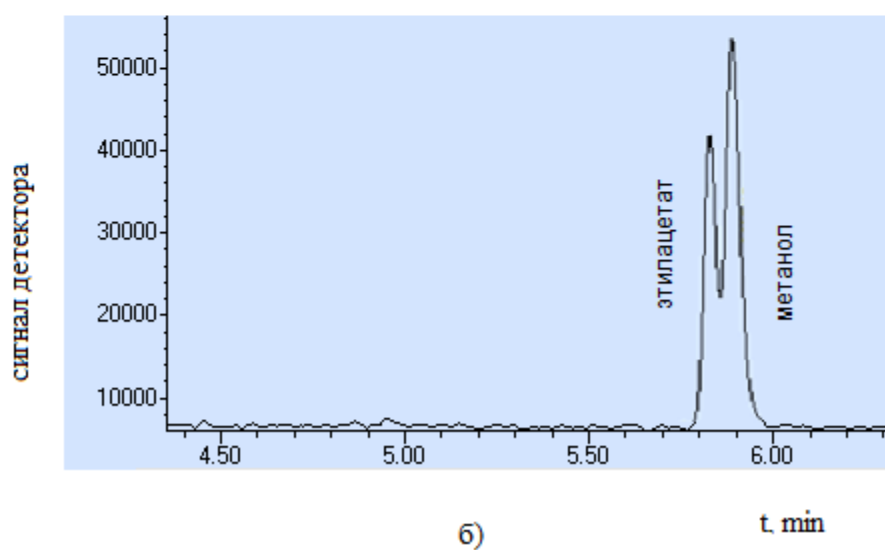
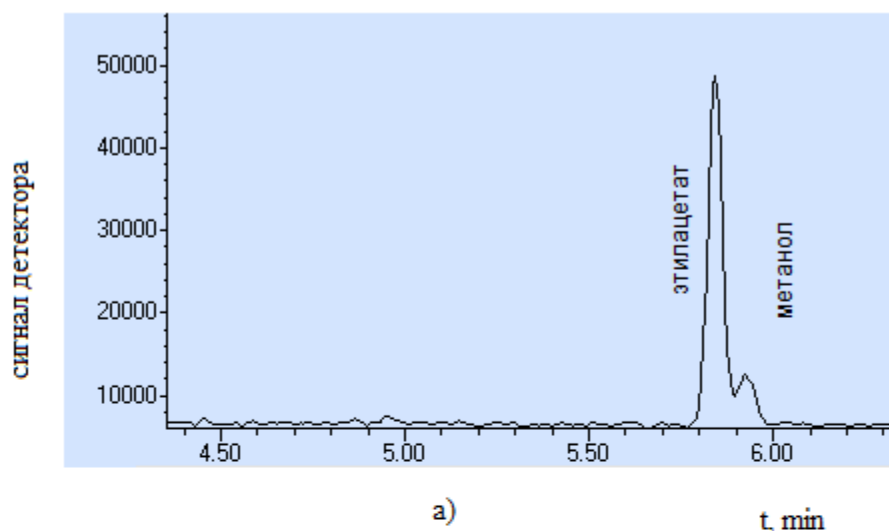


Рис. 3.5. Хроматограммы отгонов: а) настойки горькой; б) текилы

На рис. 3.5 приведены для примера хроматограммы реальных объектов анализа – настойки горькой и текилы. Как видно из хроматограмм, несмотря на близкие времена удерживания этилацетата и метанола, подобранные режимы хроматографирования позволяют определять наличие метанола в присутствии этилацетата.

В ходе исследований оценена возможность количественного определения метилового спирта. Хромато-масс-спектрометрическую систему градуировали методом абсолютной градуировки с использованием трех уровней модельных растворов с объемной долей метилового спирта 0.120, 0.0062 и 0.0030 % об. Метанол регистрировали по времени удерживания. Определяли площадь хроматографических пиков с применением программного обеспечения, входящего в комплект системы. Градуировочную зависимость считали приемлемой, если расхождение между двумя параллельными определениями не превышало 20%:

$$\frac{2 \cdot |C_{i1} - C_{i2}| \cdot 100}{(C_{i1} + C_{i2})} \leq r_i,$$

где 2 – число параллельных определений;  $C_{i1}$ ,  $C_{i2}$  – результаты параллельных определений объемной доли метанола в анализируемой пробе, % об.;  $r_i$  – значение предела повторяемости, 20 %; 100 – множитель для пересчета в проценты.

Таблица. 3.1. Результаты определения метанола в спиртных напитках методом ГХ-МС

№	Наименование	Объемная доля метанола, % в пересчете на безводный спирт
	Ром «Bacardi», Carta Blanca,	0.0058±0.0012
1.	«Морс вишни свежей спиртованный»	0.0610±0.0122
2.	Джин «Edinburgh Gin Classic»	0.0068±0.0013
3.	Виски «The Legendary Silkie, Dark Irish Whiskey»	0.0096±0.0019
4.	«Самогон Армянский», ТМ Персик	0.0347±0.0068
5.	Ликер «Fruko Schulz Amaretto»	0.0005±0.0001
6.	Коктейль «Лимон»	0.0039±0.0008
7.	Бальзам Рижский, Черный Курант	0.0052±0.0009
8.	Настойка «Сладкая Рябина на Коньяке»	0.0038±0.0008
9.	Ликер «Jagermeister»	0.0022±0.0004
10.	Настойка «Алкон древнерусский»	0.0046±0.0009
11.	Виски «Clynelish, 14 years»	0.0025±0.0005

Анализ полученного градуировочного графика выявил линейную зависимость содержания метанола от отклика сигнала детектора ( $R^2=0.987$ ). В подобранных условиях проанализировали 12 образцов спиртных напитков, в том числе: джины, коктейль, ром и виски (см. табл. 3.1). Измерения выполняли не менее, чем в двух повторностях в условиях повторяемости. Регистрировали площади пиков в области времени удерживания, кроме этого, идентификацию проводили сопоставляя величины совпадения масс-спектров, во всех случаях совпадение составляло 89-92%. За результат принимали среднеарифметическое двух параллельных определений, если выполнялось условие приемлемости по приведенной выше формуле.

Показано, что диапазон объемных долей метанола в пересчете на безводный спирт в исследованных образцах колебался в диапазоне от 0.0005 до 0.06 % об., наибольшее содержание метанола отмечено в «Морс вишни свежей спиртованный».

Таким образом, экспериментально подтверждено, что выбранные режимные параметры хроматографирования позволяют идентифицировать и количественно определять метанол в различных спиртных напитках. Границы относительной погрешности составляют не более 20 %. Подобранные условия ГХ-МС пригодны для разработки референтной экспрессной методики определения объемной доли метанола в алкогольных напитках.

### **3.2. Экспрессный способ определения кротонового альдегида в этиловом спирте и алкоголе методом газовой хромато-масс-спектрометрии**

Кротоновый альдегид (2-бутеналь,  $C_4H_6O$ ) – бесцветная прозрачная легковоспламеняющаяся жидкость с резким удушающим запахом, вызывает слезотечение (лакриматор) и раздражение верхних дыхательных путей, хорошо растворим в спирте, относится к II классу опасности. Его ПДК в рабочей зоне – 0.5 мг/м<sup>3</sup>. Кротоновый альдегид (КА) является важным прекурсором для синтеза многих химических веществ. Из кротонового

альдегида, например, синтезируют сорбиновую кислоту – пищевой консервант. КА является не только экотоксикантом, но и контаминантом (загрязнителем, попадающим в организм перорально), он входит в состав лакокрасочных покрытий и материалов, присутствует в сточных водах химических производств и пищевых продуктов, используется для одорации топливного газа и денатурации этанола. Известно, что одним из способов фальсификации спиртных напитков, является частичная или полная замена пищевого этилового спирта на суррогаты из гидролизного или синтетического этанола. Следует отметить, что отравление суррогатами алкоголя оказывает негативное влияние на состояние здоровья, вызывает тяжелую интоксикацию, и даже при своевременной оказанной медицинской помощи, может приводить к гибели человека. Поэтому, в состав непищевого спирта вводят различные добавки, имеющие неприятный запах или вкус и препятствующие его потреблению. В соответствии с Федеральным законом от 22.11.1995 N 171-ФЗ (ред. от 26.03.2022) "О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции" этиловый спирт (за исключением биоэтанола) и спиртосодержащая непищевая продукция являются денатурированными при условии содержания в них денатурирующих веществ или их смесей по выбору организации-производителя. Одним из таких денатурирующих компонентов является КА в концентрации не менее 0.2 % об. в этиловом спирте. Кроме того, В.П. Грязнов с применением методов ГЖХ и спектрофотометрии еще в 1968 г. установил, что при переработке дефектного крахмалистого сырья в этанол в зерновой бражке может образовываться и КА [46]. В этом случае наиболее вероятный механизм его образования – это альдольно-кетоновая конденсация уксусного альдегида, промежуточного продукта окисления этанола.

Объектами исследования являлись градуировочные растворы КА объемной долей 0.10, 0.20 и 0.40 % об., реальные образцы напитков, приобретенные методом случайной выборки в розничной торговой сети и

приготовленные в лабораторных условиях модельные растворы, имитирующие фальсификаты.

Известна методика определения массовой концентрации кротонового альдегида в винодельческой продукции методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием [48], качественный метод определения кротонового альдегида в столовых винах методом спектрофотометрии [115]. Разработаны методические указания по газохроматографическому измерению концентраций ацетальдегида, масляного альдегида и кротонового альдегида в воздухе рабочей зоны [116], известны научные труды и прикладные разработки, посвященные определению содержания КА в многокомпонентных объектах и средах различными методами анализа, в том числе ВЭЖХ-МС и ГХ-МС [116-125]. На территории Армении, Казахстана, Киргизии, Молдовы, России, Таджикистана и Узбекистана получил широкое распространение ГОСТ 31811-2012 [124], разработанный ВНИИПБТ (Россия). Стандарт распространяется на этанол, денатурированный кротоновым альдегидом, спиртосодержащую пищевую продукцию и спиртные напитки. Вместе с тем, актуальной задачей является разработка надежной, достоверной и чувствительной референтной методики определения КА в алкогольных напитках и водных средах с использованием современного аналитического оборудования, а именно ГХ-МС. Были приготовлены 3 градуировочных раствора кротонового альдегида, соответствующих началу (№ 1 – 0.10 % об.), середине (№ 2 – 0.20% об.) и концу (№ 3 – 0.40% об.) диапазона измеряемых концентраций. При проведении исследований использовали свежеприготовленные растворы.

Метрологические характеристики градуировочных растворов представлены в табл. 3.2. Из данных этой таблицы видно, что значение относительной погрешности приготовления градуировочных растворов при доверительной вероятности  $P=0.95$  не превышает 3%.

Исследования были направлены на подбор режимных параметров для идентификации и количественного определения кротонового альдегида с

применением метода ГХ-МС. В качестве базовых параметров использовали следующие режимы: объем вводимой пробы 0.5 мкл, деление потока 1:20, температура испарителя 120 °С, температура термостата 75 °С, скорость потока газа-носителя гелия 1.2 мл/мин.

В ходе эксперимента реализованы различные условия хроматографического разделения и масс-селективного детектирования. В целях оптимизации разделения варьировали температуру и скорость ввода пробы, температуру термостата. На рис. 3.6 представлена хроматограмма градуировочного раствора №1, полученная при следующих режимах: ввод пробы объемом 0.2 мкл в режиме деления потока 1:40, задержка на выход растворителя 4.6 мин, газ-носитель гелий со скоростью потока 1.0 мл/мин, температура испарителя 160°С, температура термостата - изотерма 100°С, выдержка 7 мин, температура источника ионов 230°С, диапазон сканируемых значений  $m/z$  20-500 Дальтон. Экспериментально установлено время удерживания 5.40 мин. и зарегистрирован масс-спектр (рис. 3.7) кротонового альдегида.

В ходе работ реализована также методика ГХ-ПИД определения кротонового альдегида в спирте и спиртосодержащей продукции по ГОСТ 31811-2012 [124] с применением трех уровней градуировочных растворов, построена градуировочная зависимость, получена хроматограмма градуировочных растворов.

Таблица 3.2. Характеристики градуировочных растворов КА

Раствор №1		Раствор №2		Раствор №3	
Объемная доля, %	Границы относительной погрешности $\pm\delta$ , %, при $P=0.95$	Объемная доля, %	Границы относительной погрешности $\pm\delta$ , %, при $P=0.95$	Объемная доля, %	Границы относительной погрешности $\pm\delta$ , %, при $P=0.95$
0.40	2.3	0.20	2.6	0.10	2.8

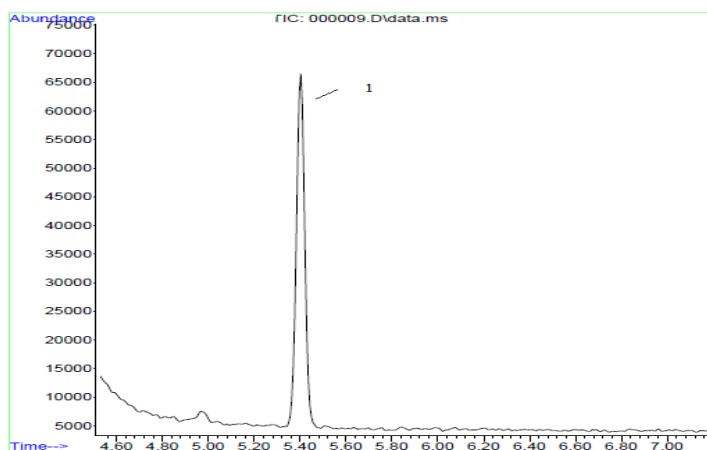


Рис. 3.6. Хроматограмма градуировочного раствора кротонового альдегида 0.4% об., полученная методом ГХ-МС

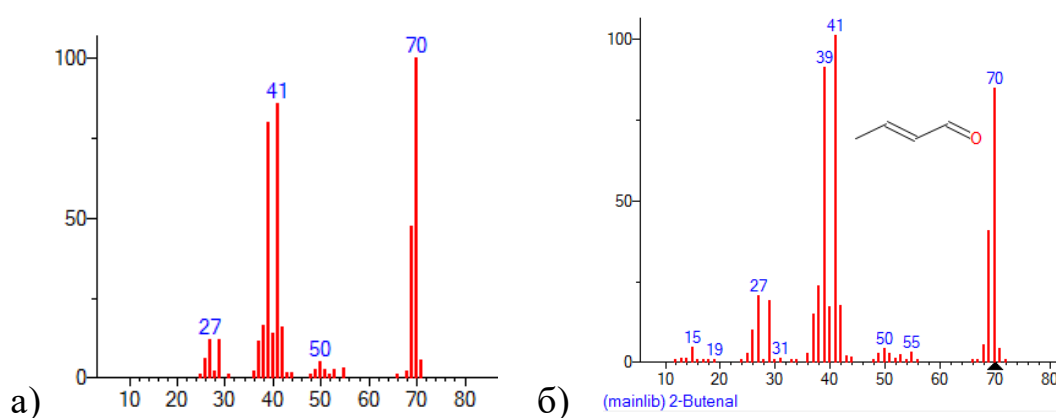


Рис. 3.7. Масс-спектр КА: а) экспериментальный б) библиотечный

Проведена серия экспериментов методом ГХ-ПИД и методом ГХ-МС, состоящая из 10 образцов алкогольных напитков. Во всех исследованных образцах кротоновый альдегид не обнаружен.

В лабораторных условиях с применением реальных образцов спиртных напитков в качестве исходных готовили модельные растворы, имитирующие фальсификаты спиртных напитков, по следующей схеме: в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливали 40-50 см<sup>3</sup> исходного напитка и дозатором вместимостью 100-1000 мкл вносили 100 мкл чистого КА для приготовления раствора, содержащего 0.40% об. КА, содержимое колбы перемешивали, выдерживали 2 часа при температуре 20 °С и доводили до метки исходным раствором. Аналогичным образом приготовлено 10 вариантов растворов, содержащих от 0.10 до 0.40% об. кротонового альдегида.

Приготовленные модельные растворы анализировали методом ГХ-ПИД и ГХ-МСД. При обработке результатов измерений по ГОСТ 31811-2012 (ГХ-ПИД) идентификацию проводили по времени удерживания. При обработке аналитических сигналов, полученных методом ГХ-МС идентификацию, проводили сравнением полученных спектров со справочными масс-спектрами библиотеки NIST 20.

Матрица пробы не оказывала значимого влияния на идентификацию целевого аналита – КА. Кроме того, применение метода ГХ-МС позволило идентифицировать пики 1 и 3, неидентифицированные методом ГХ-ПИД (рис.3.8), это 1-пропанол и изобутанол, характерные для дистиллированных спиртных напитков.

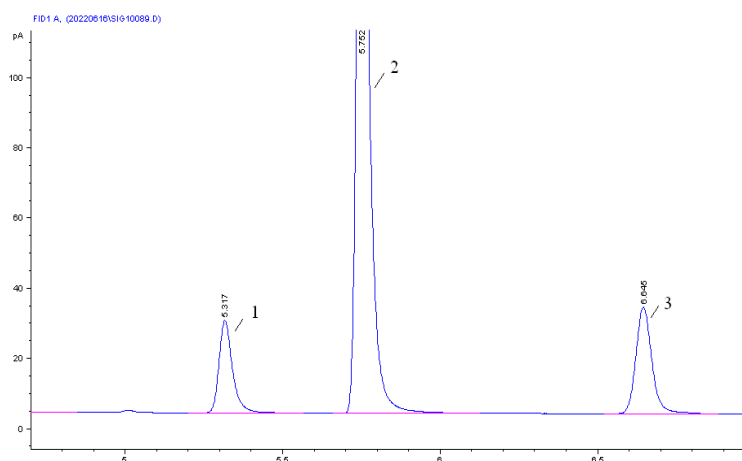


Рис. 3.8. Фрагмент хроматограммы модельного раствора, имитирующего фальсифицированный коньяк, полученной на ГХ-ПИД. 1) неидентифицированный пик, 2) кротоновый альдегид, 3) неидентифицированный пик

В целях количественного анализа применили метод абсолютной градуировки, построены градуировочные графики для кротонового альдегида и найдены линейные корреляции между концентрацией и площадью пика в диапазоне 0.10-0.40% об. Модельные растворы с КА анализировали в двух повторностях. В качестве иллюстрации представлены результаты измерений для следующих образцов: модельный раствор №1, имитирующий коньяк; модельный раствор №2, имитирующий виски, модельный раствор №3,

имитирующий клюквенную настойку, модельный раствор №4, имитирующий водку, модельный раствор №4 – ректифицированный спирт с внесенной добавкой КА, №5 – градуировочный раствор КА, 0.4% об. (табл. 3.3).

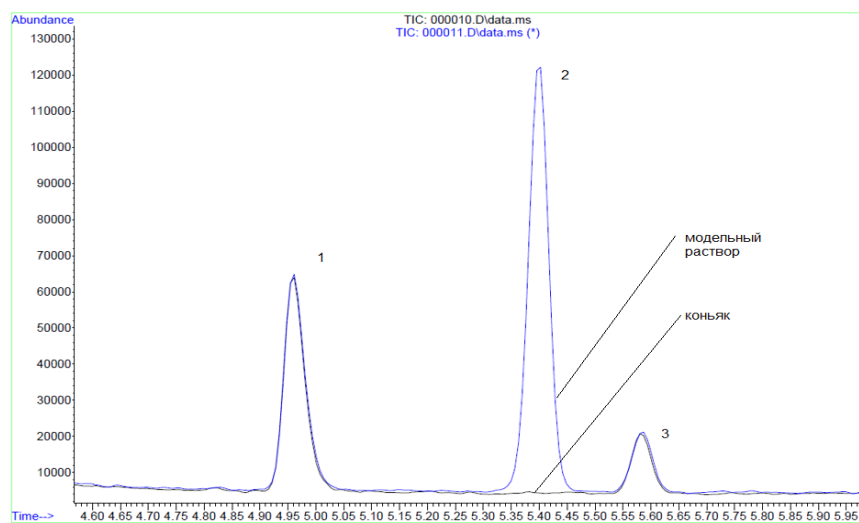


Рис. 3.9. Фрагмент совмещенных хроматограмм качественного коньяка и модельного раствора, имитирующего фальсифицированный коньяк: 1) 1-пропанол, 2) кротоновый альдегид, 3) изобутанол

Таблица 3.3. Результаты исследований модельных растворов с введенным КА в двух повторностях.

Модельный раствор	Введено, % об.	Идентификация и количественное определение методом ГХ-МС		Относительное расхождение между 2 параллельными определениями, %
		Результат 1-го определения, % об.	Результат 2-го определения, % об.	
№ 1	0.10	0.122	0.106	14.04
№ 2	0.15	0.124	0.141	12.83
№ 3	0.20	0.209	0.187	11.11
№ 4	0.30	0.347	0.320	8.10
№ 5	0.40	0.411	0.429	4.29

Таким образом, экспериментально подтверждено, что предложенные условия хроматографического разделения и масс-селективного детектирования позволяют селективно, с достаточно высокой точностью

идентифицировать КА в диапазоне 0.10-0.40% об. в спиртных напитках. Сравнительный анализ результатов, полученных методом ГХ-ПИД и ГХ-МС представлен на рис. 3.10.

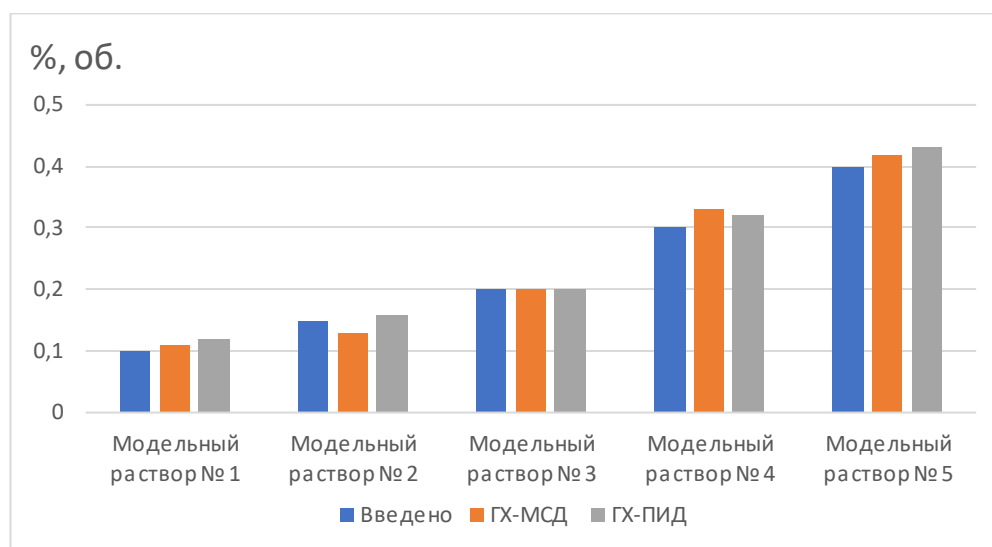


Рис. 3.10. Среднее арифметическое двух параллельных определений кротонового альдегида в модельных растворах методами ГХ-ПИД и ГХ-МС

Анализ массива полученных экспериментальных данных позволил сделать вывод о перспективности разработки методики идентификации кротонового альдегида в спиртных напитках и спиртосодержащей продукции. Предложенный хромато-масс-спектрометрический подход обеспечивает надёжное и точное подтверждение целевого анализа и может быть использован как количественный метод при экспертизе напитков. Данный способ также может быть применен при разработке методики идентификации кротонового альдегида в сточных водах [125].

### 3.3. Экспрессный способ определения бисфенола А в спиртовых экстрактах

Бисфенол А [БФА, ВРА, 2,2-бис(4-гидроксифенил)пропан] – соединение фенольного типа, используемое для получения поликарбонатов, полисульфонов и эпоксидных смол. Это ключевой компонент (мономер)

эпоксидных смол, широко используемых в качестве внутреннего покрытия металлических банок для продуктов питания и напитков, для изготовления пластиковых пищевых контейнеров [126-134]. БФА может мигрировать из внутренних покрытий консервных банок и из пластика пищевых контейнеров в продукты питания. Многочисленные лабораторные исследования на животных, а также некоторые наблюдения на людях показали, что накопление в организме БФА приводит к увеличению частоты сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, рака репродуктивной системы (яичек, простаты), к проблемам с фертильностью (низкое количество и качество сперматозоидов), нарушению ферментов печени и другим эндокринным заболеваниям [134]. Имеются также доказательства того, что даже низкий уровень воздействия БФА, особенно на чувствительных стадиях жизненного цикла (у плодов, младенцев и детей младшего возраста), может привести к необратимому изменению в гормональной, развивающей или репродуктивной способности, неврологической и эндокринной системы. Эти факты привлекли значительное внимание как научного сообщества, так и регулирующие органы государств из-за уже признанного эндокринно-разрушающего свойства БФА. По степени воздействия на организм БФА относится к веществам 3-го класса опасности (умеренно опасные вещества, ГОСТ 12.1.007). ПДК для БФА в воздухе рабочей зоны - 5 мг/м<sup>3</sup>, что в пересчете на жидкость дает 5 мкг/дм<sup>3</sup>. ПДК для БФА в воде, в водных объектах хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования установлена, согласно гигиенических нормативов ГН 2.1.5.1345-03, в количестве 0.01 мг/дм<sup>3</sup>. В европейских странах менее жесткие требования для пластмасс, контактирующих с пищевыми продуктами, а именно, было установлено значение миграции БФА 0.6 мг/кг [134].

В 2016 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США разъяснило, что доза БФА в пищевых продуктах и напитках, хранимых в тарах, произведенных с использованием БФА, безопасна, однако при условии, что продукты не были приготовлены или разогреты в таре, содержащей БФА. Однако, эпоксидные смолы, содержащие

БФА, из-за потенциальной опасности для здоровья в Японии были заменены в пищевой таре на пластики, не содержащие этот контаминант. Европейским управлением по безопасности пищевых продуктов (EFSA) и FDA было ограничено использование БФА в пластиковых бутылочках для кормления младенцев и рекомендовано не подвергать воздействию БФА маленьких детей, беременных и кормящих женщин, которые являются наиболее восприимчивыми группами населения. Как показали отдельные исследования [126], маркировка пластиковых изделий «BPA-free» или «0% BPA» нередко не гарантирует его отсутствия. На основании данных этих исследований в [126] даны рекомендации не использовать тару, возможно содержащую БФА, для хранения спирто- и жиросодержащей продукции; не нагревать в этой таре воду и пищу.

Хроматографические методы активно применяются в контроле БФА в различных средах – биологических жидкостях, консервированных пищевых продуктах, алкогольных напитках и соках [102,126-134]. Это ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ с различными способами детектирования. Среди хроматографических методов особенно выделяется ВЭЖХ-МС, т.е. метод ВЭЖХ, совмещенный с масс-спектрометром [129], как наиболее информативный. Однако он и наиболее дорогостоящий как по аппаратному оформлению, так и по расходным материалам. Метод ГЖХ также апробирован в контроле БФА в различных средах [130,131]. Для этих целей применяли как ГХ-ПИД, так и ГХ-МС. Для выделения БФА из анализируемой смеси разработаны различные способы жидкостно-жидкостной экстракции, твердофазной экстракции, апробирован и комбинированный способ QuEChERS. Для экстракции применяли ацетонитрил или его смесь, например, с этилацетатом или изопропиловым спиртом. После концентрирования для анализа методами ГХ БФА подвергали этерификации, переводили в легколетучее производное.

Известно, что пробоподготовка является одной из наиболее важных стадий химического анализа, обеспечивающая точность результатов и достоверную идентификацию целевых аналитов. Вместо ЖЖЭ токсичным и

дорогостоящим ацетонитрилом и последующей дериватизации БФА уксусным ангидридом - веществом, входящим в перечень прекурсоров, подлежащих контролю на территории РФ, нами предложена экстракция из пластика этанолом, в котором БФА хорошо растворяется и *прямое* хроматографирование БФА (температура кипения 220 °С). Такой подход можно отнести к «зеленой» хроматографии.

Для градуировки использовали 5 растворов в этаноле (табл.3.4).

Таблица 3.4. Характеристики градуировочных растворов БФА при доверительной вероятности P=0.95

№5		№4		№3		№2		№1	
С, мг/дм <sup>3</sup>	±δ, %	С, мг/дм <sup>3</sup>	±δ, %	С, мг/дм <sup>3</sup>	±δ, %	С, мг/дм <sup>3</sup>	±δ, %	С, мг/дм <sup>3</sup>	±δ, %
1.8	±2.5	1.2	±2.5	0.6	±3.0	0.4	±3.5	0.2	±3.5

Основываясь на анализе первоисточников и каталогов по хроматографическим колонкам [137-138] сформирован перечень наиболее перспективных хроматографических колонок для прямой газовой хроматографии БФА (табл. 3.5).

Таблица 3.5. Основные колонки для газовой хроматографии

Хроматографическая колонка	Состав неподвижной фазы	Характеристика	Температурный диапазон, °С
Rtx-5, DB-5, ZB-5	диметилполисилоксан (95%), модифицированный дифенилполисилоксаном (5%)	универсальные неполярные колонки	от -60 до 360/370
ZB-FFAP, DB-FFAP, HP-FFAP	полиэтиленгликоль, модифицированный нитротерефталатом	колонка высокой полярности	от 40 до 250/260
ZB-1, Rtx-1, DB-1	100% диметилполисилоксан	неполярная колонка	от -60 до 360/370
ZB-WAX, Rtx-WAX, HP-INNOWax	полиэтиленгликоль	полярная колонка	от 40 до 250/260
Ultra ALLOY®-5	диметилполисилоксан (95%), модифицированный дифенилполисилоксаном (5%)	неполярная	от 40 до 360/380

Для определения БФА выбрали неполярную хроматографическую колонку Ultra ALLOY®-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) из нержавеющей стали, весомым преимуществом которой является возможность работы в широком температурном диапазоне с максимальной рабочей температурой 360/380 °C. Колонка Ultra ALLOY®-5 была разработана для анализа опасных для окружающей среды веществ - алкилфенолов, таких как БФА, нонилфенолы, а также сложных эфиров фталатов в виде свободных форм на уровне ppb без сложной предварительной обработки. Колонка отличается высокой стойкостью к загрязнению [138]. Скорость газа-носителя гелия варьировали в интервале 0.8-1.4 мл/мин. Объем вводимой пробы испытывали в диапазоне 0.2-1.0 мкл. Температуру испарителя варьировали в диапазоне 250-300 °C. Начальную температуру термостата подбирали в диапазоне 80-290°C. Исследования температурных параметров термостата для определения БФА осуществляли в изотермическом и программируемом режимах. Оптимальным оказался программируемый режим в диапазоне 80-290 °C со скоростью 20 °C, который позволил обеспечить более быстрое элюирование БФА с 17.3 до 10.2 мин, тем самым сократив общее время хроматографического анализа до 11 мин. В табл. 3.6 представлены найденные в результате планирования эксперимента оптимальные условия хроматографирования БФА.

Таким образом, в ходе исследований подобраны параметры, обеспечивающие необходимые разделение и чувствительность. Типовая хроматограмма градуировочного раствора БФА, полученная в подобранных условиях, представлена на рис. 3.11. На рис. 3.12 представлен экспериментальный масс-спектр БФА.

Исследование времен удерживания БФА, проведенное на градуировочных растворах, показало высокую стабильность этого параметра. Максимальное отклонение от среднего арифметического значения времени миграции не превышает 0.05%. Такой метод может стать референтным для определения БФА в этанольных растворах. При проверке воспроизводимости

площадей пиков расхождение не превышало 13.9%, что подтверждает стабильность отклика сигнала (табл. 3.7)

Таблица 3.6. Оптимальные условия работы хромато-масс-спектрометрической системы для идентификации и количественного определения БФА

Параметр	Подобранные параметры
Ввод пробы	автосэмплер
Газ-носитель	гелий
Скорость газа-носителя	1.2 мл/мин
Объем вводимой пробы	1.0 мкл
Температура испарителя	250 °С
Программирование температуры термостата	80-290°С/20°С
Хроматографическая колонка	Ultra ALLOY <sup>+</sup> -5
Задержка на выход растворителя	3 мин
Время анализа	11 мин
Библиотека спектров	NIST 20
Температура интерфейса	290°С
Энергия ионизирующих электронов	75 эВ
Режим регистрации масс-спектров	SCAN в диапазоне масс m/z 19-600 а.е.м.

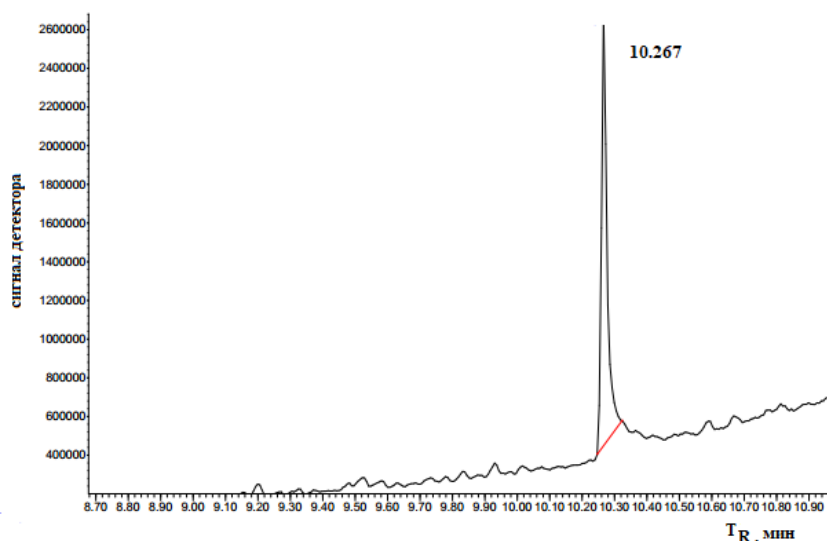


Рис. 3.11. Типовая хроматограмма градуировочного раствора №2 БФА

Хорошая воспроизводимость площадей пиков свидетельствовала о перспективности разработки методики количественного определения БФА как методом ГХ-МС, так и методом ГХ-ПИД.

Была изучена линейность методики в диапазоне измеряемых концентраций 0.2-1.8 мг/дм<sup>3</sup>. Каждый градуировочный раствор анализировали в 3-х повторностях, при помощи ПО, входящего в состав хроматографического комплекса, строили градуировочный график (рис. 3.13).

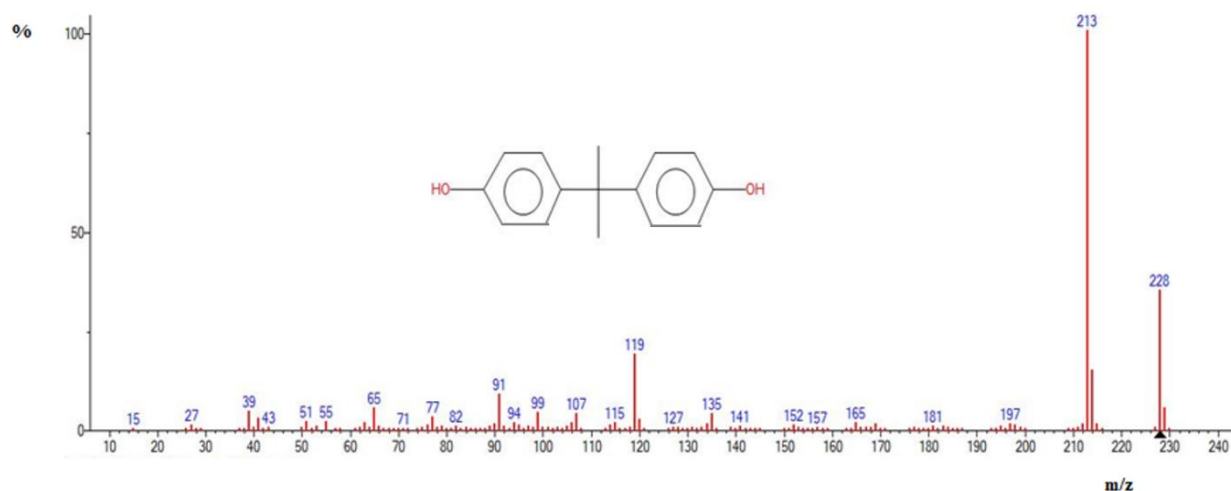
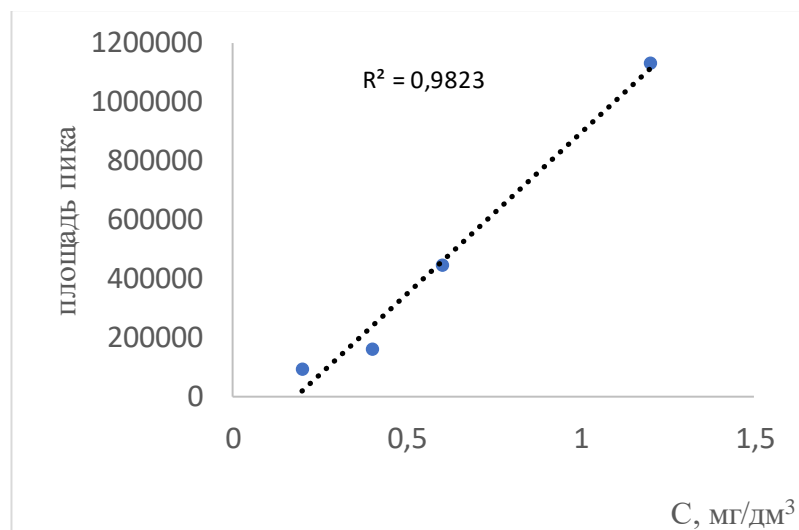


Рис. 3.12. Масс-спектр бисфенола А (совпадение полученного масс-спектра с библиотечным NIST 20 – 98%)

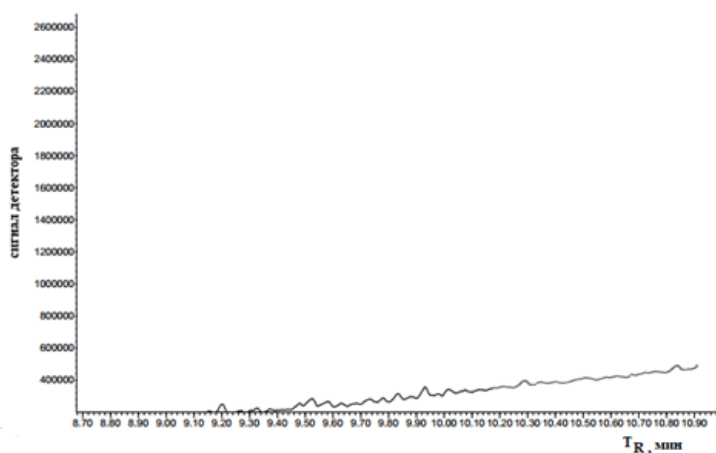
Таблица 3.7. Площади пиков для градуировочных растворов БФА, мВ

Раствор	Площадь пика БФА, мВ			Среднее арифметическое площади пика	Максимальное отклонение от среднего арифметического, %
	1-ый ввод	2-ой ввод	3-ий ввод		
№1	95982	96792	114980	102585	12.1
№2	256675	275409	214321	248802	13.9
№3	553812	477812	463998	498541	11.1
№4	1169005	1175407	1330220	1224877	9.0
№5	3500503	42800117	3594310	3791608	13.1

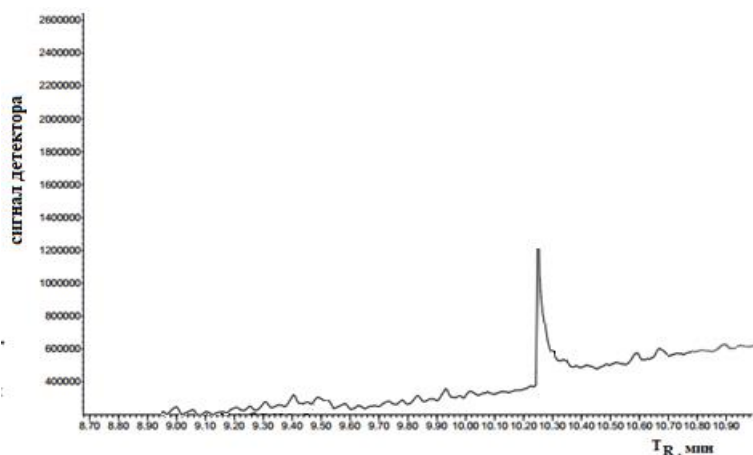


**Рис. 3.13** Градуировочный график зависимости площади пика от массовой концентрации БФА

Установлено, что наиболее тесная линейная корреляция наблюдается в диапазоне 0.2-1.2 мг/дм³, а именно, площадь пика от концентрации БФА выглядит следующим образом:  $S=10^6C-171440$ ,  $R^2 = 0.9823$



**Рис. 3.14.** Хроматограмма образца этанольного экстракта пластмассовой бутылки с маркировкой «BPA-free»



**Рис. 3.15.** Хроматограмма образца этанольного экстракта образца эпоксидной смолы,  $C(\text{БФА})=0.28$  мг/дм³

С применением подобранных режимов исследовали образец пластиковой бутылки с маркировкой «BPA-free» (БФА отсутствует) (рис. 3.14) и образец эпоксидной смолы (рис 3.15). Таким образом, установлена принципиальная возможность разработки методики идентификации и количественного определения свободного БФА методом ГХ-МС в смывах и экстрактах из пластиков пищевого назначения с применением этанола в качестве растворителя-экстрагента без предварительного перевода БФА в более летучее ацилированное производное [140-141].

## **Глава 4. Хроматографическое определение подлинности пищевой продукции по жирнокислотному и триглицеридному составу жировой фазы**

### **4.1. Химический состав продукции из растительного сырья**

Для маслодельной отрасли пищевой промышленности является актуальным вопрос совершенствования методов контроля качества и подлинности растительных масел. Хроматографическими методами определяются жирнокислотный и фракционный триглицеридный состав [5,7,12,158-165]. Дифференциация растительных жиров различного происхождения связана прежде всего с определенным набором жирных кислот, входящих в их состав. Методом ГХ-ПИД достоверно регистрируется в жирах до 35 кислот [5] в диапазоне концентраций 0.1–100%. Для рутинных методик качественной идентификации нецелесообразно производить исчерпывающую идентификацию жирно-кислотного состава масла [5,7,12]. В унифицированном массовом анализе также нежелательно искать специфические компоненты, присущие только отдельным видам масла. На первичном экспрессном этапе контроля оптимальным решением является определение содержания нескольких основных жирных кислот, информация о которых статистически достоверна [12]. На втором этапе, при выявлении отклонений от проверяемого стандарта, появляется необходимость детализировать контроль. В [12] в качестве идентификационных критериев натуральных растительных масел рассмотрено содержание в них 6 высших жирных кислот, в массовых % относительно суммарного содержания ЖК: миристиновой кислоты (C14:0), пальмитиновой кислоты (C16:0), стеариновой кислоты (C18:0), олеиновой кислоты (C18:1), линолевой кислоты (C18:2) и линоленовой кислоты (C18:3). Как правило, этого достаточно для предварительной идентификации.

Данные по содержанию этих кислот в различных растительных маслах имеются в монографиях, справочной литературе и ГОСТ [5,7,12, 158-165]. В

разных источниках, в том числе в нормативных документах, имеются определенные различия в диапазонах варьирования состава ЖК. Для нахождения наиболее широких естественных диапазонов колебаний массовых долей жирных кислот эти данные обобщены в виде программно-аналитического комплекса «Система идентификации пищевых жиров и масел»[148]. Комплекс содержит данные о составе ЖК в растительных маслах и животных жирах. Всего в нем собрана информация о 16 ЖК различных жиров (30 наименований), трех обобщенных показателях - йодном числе, числе Райхерта – Мейссля, пероксидном числе и 2-х теплофизических показателей. На рис. 4.1-4.2 приведены примеры контрольных карт (КК) коровьего молочного жира [148].

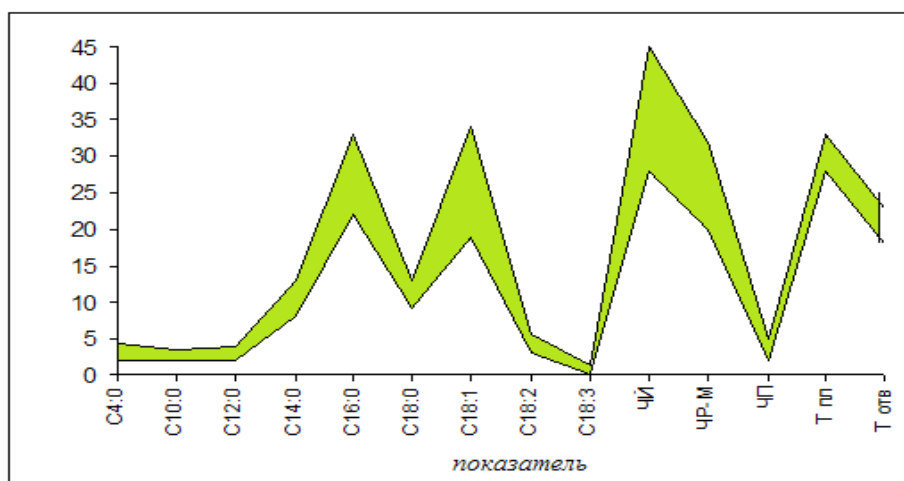


Рис. 4.1. КК молочного жира с нормативными диапазонами

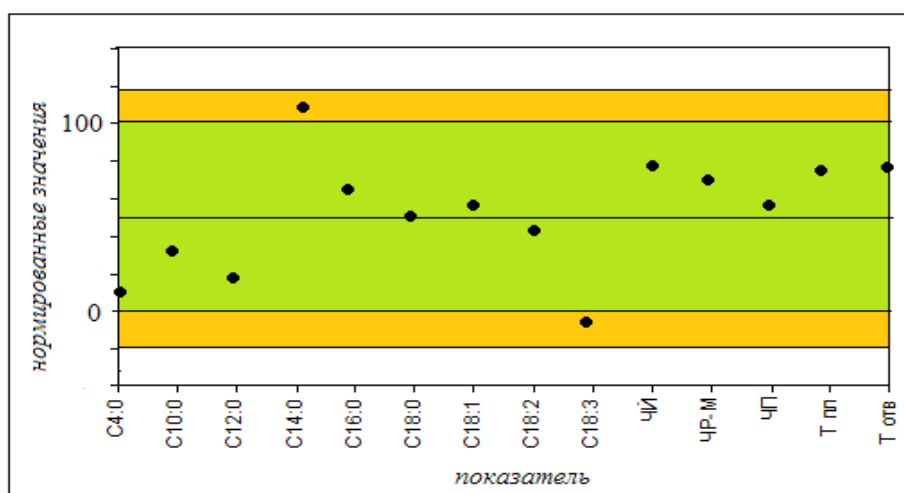


Рис.4.2. КК молочного жира с нормализованными показателями

В нормализованном варианте КК максимально допустимое значение  $K_i=100$ , минимальное 0. Для просмотра в графическом виде и анализа полученных данных строятся специальные контрольные карты с нормализованными значениями содержания ЖК в виде диаграмм, на которых на оси ординат отложены нормализованные значения, а на оси абсцисс (ось категорий) обозначены контролируемые параметры  $K_i$ :

$$X_n = 100 \times (X - X_{\text{мин}}) / (X_{\text{макс}} - X_{\text{мин}}),$$

Construction of a control map

Researched sample: **Оливковое масло**

Parameter::	NORM		Sample:	Conformity: Yes/No
	MIN	MAX		
C 4:0	0	0	0	Yes
C 10:0	0	0	0	Yes
C 12:0	0	0	0	Yes
C 14:0	0	0	0	Yes
C 16:0	7	20	8	Yes
C 16:1	0,3	3,5	3	Yes
C 18:0	1,5	4,3	4,4	No
C 18:1	56	83	55	No
C 18:2	3,3	20	3	No
C 18:3	0,4	1,5	1	Yes
C 20:0	0,2	1,6	0,1	Yes
C 20:1	0,7	1,7	1,5	Yes
C 22:0	2,1	4,4	4,5	No
C 22:1	0	0,3	0,5	No
C 22:2	0	0	0,1	No
C 24:0	1,1	2,3	1	Yes
T отв	0	-6	0	Yes
T пл	0	0	0	Yes
N	1,466	1,471	1,467	Yes

Рис.4.3. Скриншот данных программы для оливкового масла, с введенными данными образца оливкового масла, приобретенного в торговой сети

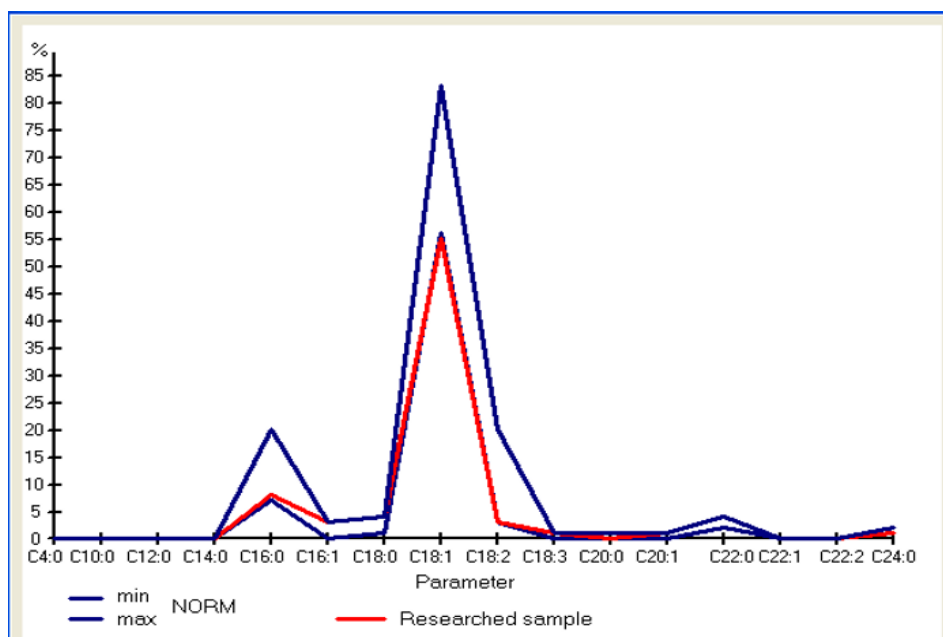


Рис. 4.4. Скриншот КК оливкового масла с исследуемым образцом

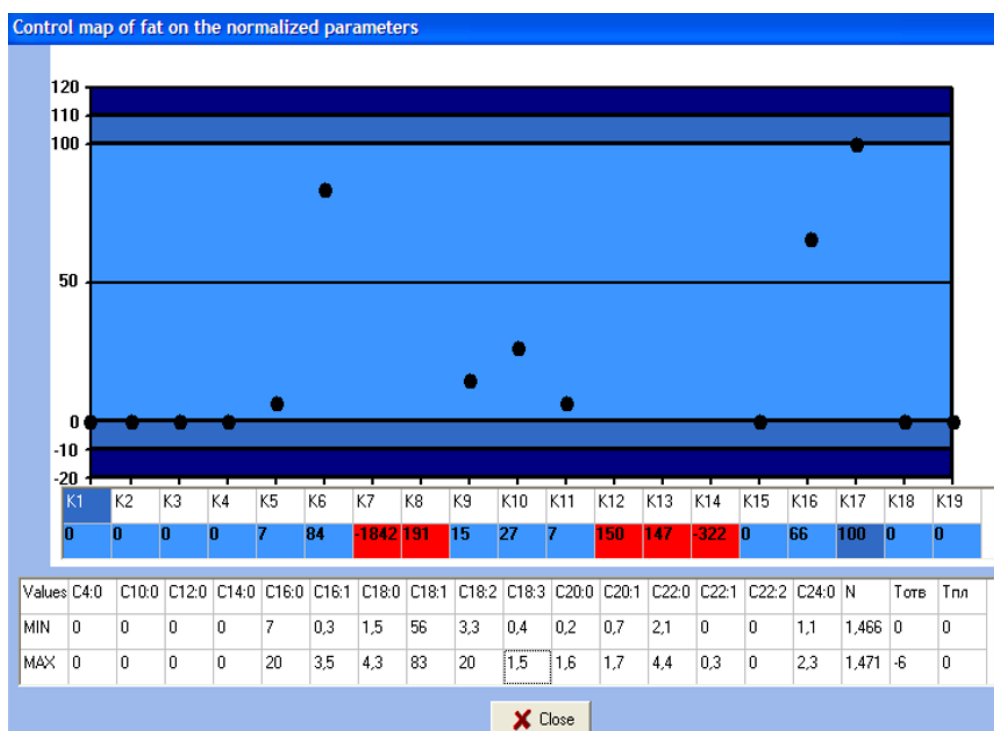


Рис. 4.5. Скриншот нормализованной КК оливкового масла и данными исследуемого образца

Оператор вводит в базу данных наименование жира или масла и данные образца, программа автоматически выстраивает КК и отмечает, какие показатели выходят из допустимого диапазона, какие нет. Нормализованная КК включает также погрешности полученных значений (рис. 4.3-4.5).

Из скриншотов видно, что данный образец оливкового масла по 6 параметрам отличается от натурального. В [149] представлена веб-ориентированная версия этой информационно-справочной системы по жирнокислотному составу растительных масел.

Для проверки справочных данных были проанализированы выборки из 10 различных партий рассматриваемых видов РМ. Получены среднеарифметические величины  $X_{\pm}(St/N)$ , где  $S$  – стандартное отклонение среднеарифметического значения,  $t = 2.262$  при  $N = 10$  и  $P = 0.95$ . Наши результаты находились или внутри ранее найденных диапазонов, или ненамного отклонялись от них.

Обнаруженные отклонения также учитываются в программном комплексе ( $\pm 10$  и  $\pm 20$  отн. %) при проверке установленных в НД диапазонов концентраций кислот. Это сделано для повышения достоверности заключения о том, что выход даже одного показателя за установленные в качестве идентификационного критерия доверительные границы должен свидетельствовать о фальсификации данного жира другим с учетом погрешностей газохроматографического анализа.

В табл. 4.1 приведены хроматографические данные по составу ЖК растительных масел [101,154,158,161,164,165,180,195]. Рассмотрим, как варьирует жирнокислотный состав в изучаемых образцах РМ (табл.4.2). На рис. 4.6-4.7 приведены тренды изменения содержания 5 основных ЖК, они отсортированы по убыванию самой распространенной ненасыщенной ЖК – линолевой (C18:2) и насыщенной ЖК – пальмитиновой (C16:0). Самое большое содержание линолевой кислоты наблюдали у образца подсолнечного масла, олеиновой (C18:1) – у рапсового и линоленовой (C18:3) – у рыжикового масла. Наибольшее содержание пальмитиновой кислоты (C16:0) – у амарантового масла, наименьшее содержание насыщенных ЖК – у рапса.

Анализ соотношений содержания различных ЖК во взятой выборке РМ (табл. 4.2) выявил наличие общих для них природных корреляций, которые, вероятно, обусловлены подобными биохимическими процессами синтеза

жиров в растениях различных видов. В матрице линейных корреляций типа  $W_2=aW_1+b$  представлены только значения коэффициентов R.

Конечно, для уточнения этих корреляций необходим статистико-математический анализ более обширного массива данных, тем не менее, их наличие не вызывает сомнений. Обращает внимание то, что значимые симбатные корреляции наблюдаются преимущественно между насыщенными ЖК. Между минорными ЖК (C4:0-C10:0) и пальмитиновой кислотой (C16:0) характерны асимбатные тренды (отрицательные значения R).

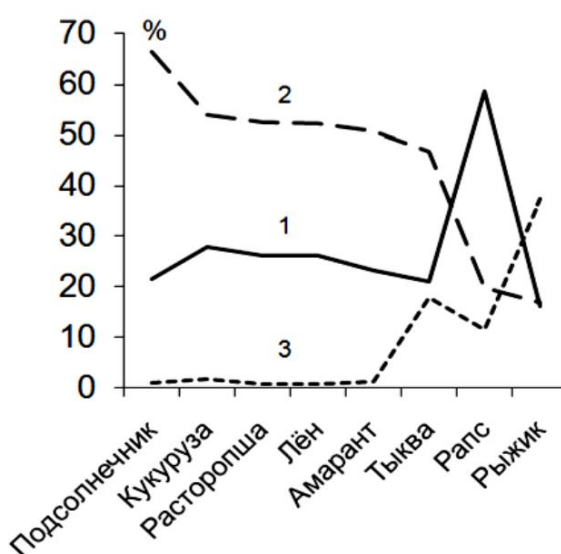


Рис. 4.6. Изменение состава основных ненасыщенных ЖК в зависимости от вида растительного сырья: 1 – C18:1, 2 – C18:2, 3 – C18:3

Отсутствие значимых корреляций ( $R > 0.50$  или  $R < -0.50$ ) между основными ненасыщенными кислотами C18:1, C18:2 и C18:3 указывает на генотипические межвидовые различия в генезисе этих ЖК. Вместе с тем при внутривидовой вариации жирнокислотного состава РМ между этими кислотами могут наблюдаться достаточно тесные взаимосвязи, характерные для конкретного растительного сырья. Например, в льняном масле, полученном из разных сортов льна в разные периоды созревания между содержанием C18:3 и C18:2 проявляются асимбатные корреляции с R от -0.62

до -0.96, между C18:3 и C18:1 соответственно от -0.76 до -0.88, корреляции между содержанием C18:2 и C18:1 в масле льна также были, но положительные (от 0.50 до 0.60) [152,153]. В статье [153] также проведен трех- и двухфакторный анализ массива данных (n=135) по жирнокислотному составу 27 образцов льна, в том числе 3 низколиноленовых.

Дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа и места репродукции на соотношения между ЖК. Низколиноленовые сорта культивируются, прежде всего, для пищевых целей, они также пригодны для получения льняного волокна. В работе [153] было проанализировано содержание только 5 основных ЖК (C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 и C18:3). Наша проверка этих данных методом корреляционного анализа выявила сравнительно тесные корреляции для льняного масла: симбатная зависимость между насыщенными кислотами  $W(C18:0)=0.52W(C16:0)-1.00$  при коэффициенте парной корреляции  $R=0.75$  и асимбатная зависимость  $W(C18:3)=71.2-1.1W(C18:2)$ ,  $R=-0.95$ .

Таблица 4.1. Жирнокислотный состав образцов растительных масел (W,%)

ЖК	Лен	Рыжик	Кукуруза	Амарант	Подсол- нечник	Рапс	Расто- ропша	Тыква
Масляная	0.03	0.06	-	-	0.03	0.02	0.03	-
Капроновая	0.01	0.03	-	-	0.02	0.01	0.01	-
Каприловая	0.01	0.02	-	-	0.01	0.01	0.01	-
Каприновая	0.03	0.04	-	-	0.03	0.02	0.03	-
Лауриновая	0.04	0.06	0.21	-	0.04	0.04	0.04	-
Миристиновая	0.24	0.22	0.28	0.22	0.17	0.14	0.21	-
Миристолеиновая	0.01	0.02	-	-	0.01	-	-	-
Пентадскановая	0.04	0.04	-	-	0.02	0.03	0.03	-
Пальмитиновая	8.11	5.41	12.25	17.43	6.17	4.45	8.12	7.96
Пальмитолеиновая	0.10	0.11	0.45	-	0.08	0.22	0.09	-
Маргариновая	0.08	0.05	-	0.61	0.03	0.05	0.08	-
Маргаринолеиновая	-	-	-	-	-	-	0.04	-
Стеариновая	5.27	2.52	1.95	4.78	3.07	1.80	5.20	..
Олеиновая	26.16	17.13	27.75	23.15	21.52	58.61	26.13	21.05
Элаидиновая	-	0.03	-	-	-	-	-	-
Линолсвая	52.87	17.79	54.06	50.69	66.41	19.67	52.51	46.69
α-Линоленовая	0.85	37.34	1.90	1.30	0.98	11.55	0.82	18.04
Арахидиновая	2.91	1.26	0.45	0.82	0.19	0.59	2.85	0.23
Эйкозеновая	1.04	14.20	0.25	0.20	0.17	1.52	1.02	0.82

Продолжение табл. 4.1

Эйкозадисновая	0.04	1.93	-	-	0.02	0.10	0.04	2.4
Эйкозатрисновая	-	1.41	-	-	-	0.02	-	1.01
Эйкозапентаговая	-	0.06	-	-	0.25	0.06	-	-
Ункозановая	0.03	-	-	-	-	0.02	0.03	-
Бегеновая	2.09	0.27	0.25	0.43	0.61	0.34	2.00	-
Тетракозановая	-	-	0.20	0.39	-	-	-	-

Таблица 4.2 Коэффициенты парной корреляции R между W(%) ЖК в РМ

ЖК	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
C4:0	1	0.95	0.98	0.96	-0.17	0.25	-0.64	0.14	0.14	0.14	0.41	0.54
C6:0		1	0.94	0.90	0.10	0.17	-0.65	-0.14	-0.31	-0.16	-0.38	0.57
C8:0			1	0.95	-0.13	0.21	-0.70	-0.11	-0.22	0.02	-0.50	0.31
C10:0				1	0.57	0.25	-0.71	-0.05	-0.05	-0.04	-0.08	-0.16
C12:0					1	0.57	0.11	0.94	-0.58	0.05	0.05	-0.03
C14:0						1	0.33	0.49	0.17	0.07	0.14	-0.27
C16:0							1	0.01	0.32	-0.29	0.42	-0.45
C16:1								1	0.38	0.23	-0.07	-0.13
C18:0									1	-0.45	0.45	-0.33
C18:1										1	-0.42	-0.03
C18:2											1	0.79
C18:3												1

Иначе говоря, при увеличении содержания пальмитиновой кислоты, растет содержание стеариновой, а при увеличении доли линолевой кислоты, падает содержание линоленовой. Наибольшее влияние на состав ЖК, как и следовало ожидать, имеет генотипический фактор, в меньшей степени влияет место репродукции льна.

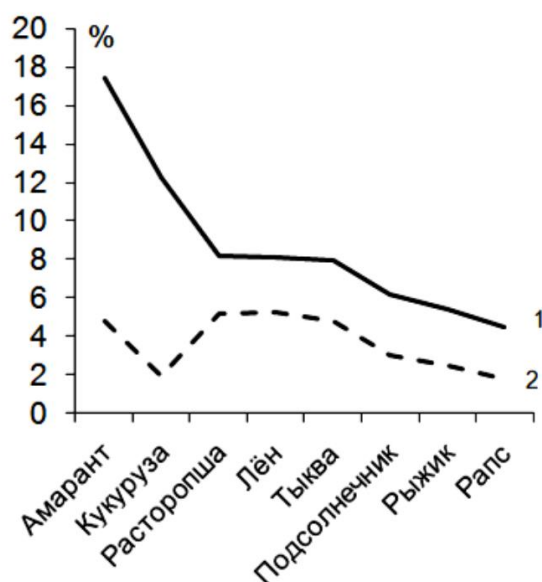


Рис.4.7. Изменение состава основных насыщенных ЖК в зависимости от вида растительного сырья: 1 – С16:0, 2 – С18:0

Наличие компенсационных эффектов в составе ЖК, симбатных и асимбатных корреляций в их соотношениях для различных РМ, является той дополнительной и неочевидной на первый взгляд информацией, которую можно отнести к метаданным. И эта информация может быть полезной для проверки аутентичности РМ. Выход содержания ЖК за допустимые для данного вида РМ диапазоны и/или нарушение значимых природных корреляций между ЖК может указывать на: а) фальсификацию РМ, его подмену; б) добавку в него масел других растений или животных; в) физическое фракционирование; г) химическое воздействие – частичную или полную гидрогенизацию, переэтерификацию в присутствии других жиров, транс-изомеризацию; е) генное модифицирование.

Таким образом, если в образце РМ, декларируемом, как льняное, отдельные ЖК выпадают из диапазона, а природные соотношения нарушены, продукцию следует отбраковать как некондиционную. Аналогичный подход применим и для других РМ. Полученные хроматографические данные о жирнокислотном составе РМ дополняют существующий массив информации о натуральном составе триглицеридов этих масел, применение

корреляционного анализа с использованием матриц линейных корреляций позволяет выявить характерные генотипические или фенотипические природные соотношения ЖК в натуральном растительном сырье. Их нарушение свидетельствует о фальсификации продукции путем подмены сырья, внесения добавок, фракционирования либо химического воздействия на смеси растительных масел.

Триглицеридный состав РМ взяли из работы [179], в которой при расшифровке ВЭЖХ хроматограмм использован инкрементный подход, разработанный Дейнекой с соавт. [101] и основанный на идее аддитивности вкладов (инкрементов) функциональных групп в удерживание сорбата.

Таблица 4.3. Триглицеридный состав образцов РМ

ТАГ	NEC	Рыжик	Лён	Рапс	Подсолнечник	Амарант	Тыква	Расторопша	Кукуруза
L <sub>3</sub>	35.4	4.6	22.6	1.2	0	0	0	0	0
L <sup>2</sup> L	37.4	4.5	11.4	1	0	0	0	0	0
L <sup>1</sup> L <sub>2</sub>	39.4	3.1	3.7	3.8	0	0	0	0	3.7
L <sup>2</sup> O	39.4	4.9	13.9	7.7	0	0	0	0	1.9
L <sup>2</sup> P	39.6	3.0	7.0	0.6	0	0	0	0	0
L <sub>3</sub>	41.4	3.3	1.5	1.4	33.0	12.0	14.2	15.6	30.7
L <sup>1</sup> LO	41.4	12.7	5.4	6.5	0	0	0	0	5.7
L <sup>2</sup> E	41.4	9.8	0	0	0	0	0	0	0
L <sup>1</sup> LP+L <sup>2</sup> S	41.6	4.1	8.5	1.2	0	0	0	0	0
L <sub>2</sub> O	43.4	2.5	2	9.1	26	16.4	19.6	20.5	15
L <sup>1</sup> O <sub>2</sub>	43.4	3.2	6.9	8.9	0	0	0	0	0
L <sup>1</sup> LE	43.4	4.9	0	0	0	0	0	0	0
L <sup>1</sup> LS+L <sub>2</sub> P	43.6	4.2	0	1.2	0	0	0	0	0
L <sup>1</sup> OP	43.6	1.8	3.6	2	0	0	0	0	0
L <sup>1</sup> P <sub>2</sub>	43.8	2.7	0	0	0	0	0	0	0
L <sub>2</sub> P	43.6	0	0	0	9.8	15.8	14.3	8.4	0
LO <sub>2</sub>	45.4	6.2	2.5	18.7	9.3	10.2	10.7	11.6	12
L <sub>2</sub> E	45.4	3.9	0	0	0	0	0	1.6	0
L <sub>2</sub> S	45.6	3.9	2.7	0	4.8	3.7	5.2	7.1	5.7
LOP	45.6	2.3	0	3.7	4.3	11.4	10.3	6.7	5.9
LOP+L <sup>1</sup> OS	45.6	0	4	0	0	0	0	0	0
LP <sub>2</sub>	45.8	2.3	0.9	0	0.8	6.4	3.8	1.8	2
L <sup>1</sup> OE	45.4	2	0	0	0	0	0	0	0
L <sup>1</sup> OA	47.6	0	0	1.6	0	0	0	0	0
LPS	45.8	0	0	0	0	3.2	4.0	0	0
O <sub>3</sub>	47.4	5.2	2.4	24.2	6.5	5	3.9	8.1	7.8
LOS	47.4	0	0	0	1.9	3.1	5.3	5.8	2.5
O <sub>2</sub> P	47.6	1.5	1	3.9	2.0	4.0	2.6	1.7	2.6
P <sub>3</sub>	48.0	0	0	0	0.9	1.3	1.3	1.6	0.3

Продолжение табл. 4.3

OP2	48.8	0	0	0	0	2.1	1.2	0	2.8
LS <sub>2</sub>	49.8	0	0	0	0	2.0	0	0	0
OPS	49.8	0	0	0	0	2.3	1.2	0.9	0.5
O <sub>2</sub> E	49.4	0	0	1.5	0	0	0	1.7	0
O <sub>2</sub> S	50.4	0	0	1.8	0.7	1.1	2.4	2.0	0.9
O <sub>2</sub> E''	51.4	3.4	0	0	0	0	0	0	0
LOB	51.6	0	0	0	0	0	0	2.2	0
S <sub>2</sub> O	51.8	0	0	0	0	0	0	0.9	0
LPB	51.8	0	0	0	0	0	0	0.6	0
PS <sub>2</sub>	52.0	0	0	0	0	0	0	1.2	0

Примечание: буквами указан остаток ЖК в ТАГ: А – арахиновая, В – бегеновая, Е – эйкозеновая, Е'' – эруковая, L – линолевая, L'' – линоленовая, О – олеиновая, Р – пальмитиновая, S – стеариновая кислота. Например, L<sub>2</sub>O обозначает ТАГ, образованный двумя радикалами линолевой и одним радикалом олеиновой кислоты.

Инкрементный подход не позволяет различить изомеры положения и отдельные аналогичные по хроматографическим свойствам ТАГ, но, в целом, он зарекомендовал себя продуктивным и хорошо согласующимся с данными других работ [150-166].

Значение NEC определено по формуле:

$$NEC = NC - 2.0 \times ND - 0.2 \times NA1,$$

где NC – общее количество атомов углерода в остатках ЖК, ND – общее количество двойных связей входящих в структуру ТАГ, а NA1 – количество ненасыщенных ЖК в молекуле. Триглицеридный состав РМ в таблице 4.3. ранжирован по величине эквивалентного углеродного числа NEC, который в первом приближении совпадает с временами удерживания ТАГ в условиях ОФ ВЭЖХ. Чем ниже величина NEC, тем меньше время удерживания ТАГ при обращенно-фазовой ВЭЖХ. Жиры, в том числе и РМ, могут содержать триненасыщенные ТАГ (UUU), диненасыщенные, мононенасыщенные ТАГ (UUS), мононенасыщенные, диненасыщенные ТАГ (USS) и триненасыщенные ТАГ (SSS), в жидких РМ преобладают ТАГ типа UUU и UUS, твердые при положительных температурах состоят преимущественно из USS и SSS, которые имеют более высокие температуры плавления, чем ТАГ UUU и ТАГ (UUS) (обозначение жирнокислотного остатка U от англ. unsaturated, а S –

saturated). В табл. 4.4. приведена дифференциация РМ по сумме ТАГ типа UUU, UUS, USS и SSS в исследованных РМ. Соотношение типов ТАГ существенно дополняет данные по жирно-кислотному составу для идентификации натуральности и качества РМ, так как фальсифицировать триглицеридный состав чрезвычайно сложно и в этой связи нерентабельно.

Таблица 4.4. Соотношения ТАГ в различных РМ

ТАГ	Рыжик	Лён	Рапс	Подсолнечник	Амарант	Тыква	Расторопша	Кукуруза
ΣТАГ(UUU)	72.2	72.3	84.0	74.8	43.6	48.4	59.1	76.8
ΣТАГ(UUS)	20.8	26.8	16	23.5	39.1	40.1	33.9	17.6
ΣТАГ(USS)	7	0.9	0	0.8	16	10.2	4.1	5.3
ΣТАГ(SSS)	0	0	0	0.9	1.3	1.3	2.9	0.3

Рассмотрим пример твердого РМ – масло какао (МК), наиболее часто заменяемого различными жирами-эргастами. По данным первоисточников [162-164] ТАГ масла какао можно распределить следующим образом: доля ТАГ(S,S,S) – 3-6%, ТАГ(U,U,U) – до 1%, ТАГ(S,U,U) – 8-15%, ТАГ(S,U,S) – 75-85%, из этих ТАГ в масле какао содержится POP 13-23%, POS – 36-47%, и SOS – 22-31%, симметричных ТАГ(S,U,S), таких как SOL, POL и SOA может содержаться до 1-2% и менее(см. табл.3.5).

Жирнокислотный и триглицеридный состав МК, его эквивалентов, заменителей и улучшителей хорошо изучен хроматографическими методами [162-164]. В статье [163] обсуждены хроматографические данные различных марок шоколада и шоколадных глазурей, демонстрирующие возможности метода ВЭЖХ в выявлении содержания МК в шоколадной продукции и фальсификатов МК разного происхождения. В жировой фазе 24 образцов шоколада и 9 шоколадной глазури по данным [163] доля МК составляла от 10 до 25%, если за эталон взять соотношение трех ТАГ (POP, POS и SOS), выявленных для образца МК, полученного из какао, выращенного в Кот-д'Ивуар. Однако это не говорит однозначно о фальсификации проверенной

шоколадной продукции. Во-первых, в составе этой продукции согласно ГОСТ или ТУ может быть предусмотрено не чистое МК, а его смеси с другими специальными жирами. Так, согласно ГОСТ Р 53897-2010 «Глазурь. Общие технические условия», шоколадные глазури должны содержать не менее 12% МК. Судя по данным [163], некоторые образцы глазури не выдерживают и этого минимума.

Таблица 4.5. Триглицеридный состав масла какао в бобах, выращенных в разных регионах [162-164,197]

ТАГ	Самоа	Кот-д'Ивуар	Эквадор	Малайзия	Гана	Нигерия	Бразилия
POS	38.3	36.6	36.3	36.6	37.3	37.4	34.6
SOS	26.8	23.8	26.9	28.4	26.8	26.4	23.7
POP	16.4	15.9	15.3	13.8	15.2	14.8	14
SOO,PPP	3.7	6.0	4.8	3.8	4.5	5.1	8.4
PSL	2.8	3.6	2.8	2.8	3.2	3.4	3.4
POO	2.2	4.4	3.5	2.7	2.6	3.2	5.5
SOA	2.2	1.6	2.1	2.5	2.2	1.9	1.6
PPL	1.6	1.9	1.9	1.5	1.9	1.9	1.7
OOA	1.6	1.0	1.2	1.6	1.4	1.2	1.5
POL	0.8	0.6	0.7	0.6	0.6	0.8	1.1
SSP	0.7	0.8	0.9	1.0	1.3	0.4	0.2
SOL	0.5	0.9	0.8	0.7	0.4	0.8	1.0
PPS	0.4	0.4	0.3	0.6	0.0	0.7	0.3
MOO,MMP	0.3	0.2	0.3	0.5	0.2	0.2	0.2
OOO	0.2	0.8	0.8	0.8	0.5	0.4	0.9

В жировой фазе 24 образцов шоколада и 9 шоколадной глазури по данным [163] доля МК составляла от 10 до 25%, если за эталон взять соотношение трех ТАГ (POP, POS и SOS), выявленных для образца МК, полученного из какао, выращенного в Кот-д'Ивуар. Однако это не говорит однозначно о фальсификации проверенной шоколадной продукции. Во-первых, в составе этой продукции согласно ГОСТ или ТУ может быть предусмотрено не чистое МК, а его смеси с другими специальными жирами. Так, согласно ГОСТ Р 53897-2010 «Глазурь. Общие технические условия», шоколадные глазури должны содержать не менее 12% МК. Судя по данным [163], некоторые образцы глазури не выдерживают и этого минимума.

Во-вторых, для МК возможно варьирование триглицеридного состава в зависимости от его происхождения – сорта какао-бобов, места репродукции, условий созревания и др. (табл. 3.5). Так, на сегодняшний день известно 4 сорта какао-бобов: Форастеро (Forastero), Криолло (Criollo), Тринитарио (Trinitario) и Националь (Nacional). Более 90% мирового производства шоколада получают из бобов сорта Форастеро [164]. Однако известны определенные разновидности одного и того же сорта какао-бобов, произрастающие в разных местностях, в которых соотношение ТАГ в МК будет заметно варьировать. Крупнейшие плантации какао-бобов расположены в таких регионах как Кот-д'Ивуар (40% от мирового экспорта), Гана (20% от мирового экспорта), Нигерия, Эквадор, Камерун, Байя (Бразилия), Малайзия, Самоа. Как правило, в публикациях по составу ТАГ масла какао и его заменителей обсуждают только вариации трех основных триглицеридов – POP, POS и SOS, близость к ним составов ТАГ в заменителях, содержание лауриновой кислоты и транс-изомерных ЖК, по которым вводятся ограничения. Для повышения надежности идентификации подлинности МК следует обратить внимание, по всей видимости, на наличие природных корреляций между компонентами жировой фазы натурального МК, которые обусловлены генотипическими и фенотипическими факторами. Гипотеза, из которой исходил автор данной работы, заключается в следующем: состав ТАГ в любом натуральном жире варьирует не статистически случайным образом, а зависит от сорта и условий репродукции сырья, некоторые ТАГ симбатно варьируют, другие асимбатно. Данные [162-164] позволяют проверить эту гипотезу. В табл. 4.6 приведены результаты статистической обработки этих данных, выполненной в данном исследовании. Построение матрицы парных корреляций выявило несколько линейных трендов со значимыми величинами достоверности аппроксимации ( $R^2 \geq 0.51$ ):  $y=ax+b$  ( $n=9$ ,  $P=0.95$ ), где  $x$  – содержание одного ТАГ, а  $y$  – содержание другого ТАГ. Эти корреляции подтверждают наличие генотипического и фенотипического влияния на состав ТАГ в МК. Так, при росте содержания в масле POP симбатно растет

POS, асимбатно изменяется содержание OOA, асимбатно доле POS падает содержание OOO, SOL, SOO, PPP, при этом растет содержание SOA. При росте доли SOS падает доля POO, PSL. Фракционирование, частичная гидрогенизация, переэтерификация, смешивание жиров и масел приводит к нарушению естественных соотношений. Выявление этих нарушений является дополнительным признаком фальсификации или неаутентичности продукта.

Таблица 4.6. Линейные тренды  $y=ax+b$  и коэффициенты детерминации  $R^2$  для вариаций соотношений ТАГ в натуральном масле какао ( $n=9$ ,  $P=0.95$ )[197]

ТАГ <sub>1</sub> /ТАГ <sub>2</sub>	Тренд	Коэффициенты детерминации $R^2$
POS/POP	$y=0.62x-7.73$ (1)	0.83
POP/OOA	$y=-0.04x+1.98$ (2)	0.77
POS/OOO	$y=-0.15x+6.23$ (3)	0.65
POS/SOL	$y=-0.14x+5.9$ (4)	0.58
POS/POO	$y=-65x+27.4$ (5)	0.62
POS/SOO, PPP	$y=-1.17x+48.3$ (6)	0.70
SOS/MOO, MMP	$y=0.05x-0.93$ (7)	0.52
SOS/POO	$y=-0.57x+18.3$ (8)	0.72
SOS/PSL	$y=-0.16x+7.27$ (9)	0.65
POL/SOO,PPP	$y=6.36x+0.46$ (10)	0.51
POL/SSP	$y=1.75x+2.06$ (11)	0.75
POO/SOO,PPP	$y=1.35x+0.53$ (12)	0.93
SOS/SOO,PPP	$y=-0.81x+26.4$ (13)	0.75
SOS/SOA	$y=0.23x-4.05$ (14)	0.95
POO/SOA	$y=-0.25x+2.86$ (15)	0.72
PSL/SOA	$y=-0.82x+4.6$ (16)	0.71

Так, в работе [163] приведен триглицеридный состав эквивалента МК, в нем соотношение POS/POP явно выбивается из корреляции (1) (табл.4.6), если в натуральном МК оно составляет около 1.5, то в приведенном эквиваленте МК оно равно 0.5. Для средней фракции пальмового масла, часто применяемого для приготовления заменителей МК это соотношение равно 0.2. Обратим внимание на выявленную тесную симбатную корреляцию (14) для пары SOS/SOA. В работе [163] изучен состав ТАГ не только образца МК, но и

5 его эквивалентов различного генезиса и пальмового масла. Если для натурального МК соотношение SOS/SOA колеблется в пределах 11-15, за исключением образца МК из Бразилии, то для 2 образцов эквивалента МК оно составляет 31 и 39, а для одного образца – 5, и только в двух образцах оно равно 16. Для одного из эквивалентов МК величина соотношения SOS/SOA составляет 54. В средней фракции пальмового масла, как и во всем пальмовом масле SOA вообще не идентифицирован. Таким образом, для проверки подлинности МК наличие характерных соотношений не только основных, но и минорных ТАГ может быть весьма информативным.

Анализ данных ВЭЖХ по составу ТАГ в натуральном МК различного происхождения обнаружил наличие генотипических и фенотипических трендов в этом составе. Установленные тренды могут быть использованы в проверке подлинности масла какао, в дальнейших биологических, биохимических и диетологических исследованиях. Кроме этого, сопоставление природных соотношений ТАГ масла какао и соотношений ТАГ в эквивалентах масла какао, его заменителях, улучшителях и смесях позволяет с большей надежностью выявлять некондиционную и фальсифицированную продукцию. При этом необходимо контролировать содержание и соотношения не только основных триглицеридов с позиционной специфичностью – POP, POS и SOS, но и ТАГ, доля которых составляет 1-5%.

#### **4.2. Жирнокислотный и триглицеридный состав жировой фазы молочной продукции**

Как показано в [70] «молочный жир – ценный продукт переработки коровьего молока, один из наиболее распространённых в кулинарии животных жиров, основная фаза (дисперсионная среда) в сливочном масле, которое с физико-химической точки зрения является эмульсией типа «вода в масле». Сливочное масло разных сортов содержит 50-82.5% молочного жира (чаще — 72.5-82.5%; в топленом масле — около 99%). Молочный жир состоит

преимущественно из триглицеридов, содержащих остатки различных насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Основная доля приходится на олеиновую, пальмитиновую, миристиновую и стеариновую кислоты. Имеются полиненасыщенные незаменимые кислоты – линолевая, линоленовая и арахидоновая. Присутствие заметного (7-8 % в сумме) количества низкомолекулярных жирных кислот (масляной, капроновой, каприловой и каприновой) – отличительная особенность химического состава глицеридов молочного жира, другие животные жиры и растительные масла содержат низкомолекулярные кислоты в меньших количествах». Содержание насыщенных жиров в молочном жире может достигать  $\approx 70$  % [7,12]. «Разработано и внедрено в пищевую индустрию большое количество заменителей молочного жира (ЗМЖ). Заменители молочного жира производят из немодифицированных или модифицированных растительных масел (пальмоядровое, пальмовое, кокосовое, подсолнечное, соевое и др.), для улучшения потребительских характеристик (например, для придания сливочного вкуса, улучшения реологических свойств) производители применяют различные пищевые добавки: эмульгаторы (лецитин, моно- и диглицериды и другие)» [70]. Кроме этого, сливочное масло из натурального коровьего молочного жира фальсифицируют добавками в сливочное масло частично гидрогенизированных жиров, полученных из сырья морских промыслов, добавками фракций пальмового масла или говяжьего жира [7,12]. ЗМЖ и фальсифицирующие добавки имеют существенно более низкую стоимость, чем молочный жир, поэтому производители молочной и масложировой продукции имеют соблазн частично или полностью заменить в продукции молочный жир и не всегда довести этот факт до потребителей. В работе использовали методики, приведенные в следующих стандартах: ГОСТ 32261-2013 «Масло сливочное. Технические условия»; ГОСТ 31663-2012 «Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот»; ГОСТ 33490-2015 «Молоко и молочная продукция. Обнаружение растительных

масел и жиров на растительной основе методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием»; ГОСТ ISO 17678-2015 «Молоко и молочная продукция. Определение отсутствия примеси в молочном жире с помощью анализа триглицеридов методом газовой хроматографии (контрольный метод)» и ГОСТ Р 70238-2022 «Метод идентификации состава жировой фазы и определение массовой доли молочного жира», которые распространяются на сливочное масло, изготовляемое из коровьего молока и/или молочных продуктов и побочных продуктов переработки молока, предназначенные для непосредственного употребления в пищу, кулинарных целей и использования в других отраслях пищевой промышленности. В этих стандартах приведены способы определения состава ЖК и фракций ТАГ, характерных для молочного жира, установлены нормативы и на диапазоны природных колебаний химического состава жира. Однако, из-за широких диапазонов варьирования жирнокислотного состава в натуральном молочном жире и достаточно больших границах относительной погрешности хроматографических измерений, 25-50% замены в сливочном масле молочного жира на ЗМЖ может быть не обнаружено по результатам только одной стандартизированной методики. Дополнительные возможности обнаружения фальсификации молочного жира дает проверка характерных для натурального продукта природных корреляций между отдельными жирными кислотами. Как показано в [7,12,70], наиболее чувствительны к изменению суммарного состава ЖК три кислоты – каприновая (C10:0), лауриновая (C12:0) и миристиновая (C14:0), между их содержанием в молочном жире наблюдаются и самые тесные линейные корреляции. ГОСТ 32261-2013 также нормирует соотношения между отдельными жирными кислотами. При наличии фальсифицирующих добавок эти соотношения могут нарушаться.

«Если жирнокислотный состав можно искусственно «подогнать» под натуральный, то триглицеридный состав молочного жира из-за большого количества вариаций триненасыщенных (UUU), мононасыщенных,

диненасыщенных (SUU), динасыщенных, мононенасыщенных (SSU) и триненасыщенных (SSS) триглицеридов фальсификации не подлежит; это совершенно нерентабельно, и, по-видимому, это не осуществимо» [69,70]. Не случайно была разработана и аттестована методика газохроматографического определения фракционного состава триглицеридов (ГОСТ Р 70238-2022), хотя, по нашему мнению, метод ВЭЖХ был бы более уместен для контроля над составом триглицеридов молочного и других жиров, однако методика с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ к настоящему времени не валидизирована [198].

В ГОСТ ИСО 17678-2015 и ГОСТ Р 70238-2022 выделено 16 фракций триглицеридов ТАГ, которые обозначены как С24, С26, С28, С30 и так с шагом 2 до С54 включительно, где число равно сумме атомов углерода в трех остатках ЖК в триглицеридах. В нормативных документах не обозначено, какой молочный жир считать стандартным. Эти числа не учитывают наличие и количество двойных связей, в отличие от числа NEC, но в связи с наличием большого разнообразия ТАГ в молочном жире и сложностью в их идентификации, было принято это упрощенное число, которое реально не отражает параметров удерживания ТАГ в условиях ГЖХ.

Используя ГОСТ 32261-2013 и ГОСТ Р 70238-2022, ни по хроматограммам метиловых эфиров ЖК образца жира, ни по хроматограммам фракций триглицеридов достоверно нельзя обнаружить наличие в нем смеси моно- и диглицеридов – пищевой добавки Е471, которая используется в сельском хозяйстве (корма для животных) и в масложировой промышленности в качестве эмульгатора. В основном ее изготавливают из пальмового масла. В высококачественных марках добавка Е471 на 95% состоит из моностеаратглицерина, в менее дорогих – 95 % это смесь моноглицеридов: моностеарата. монопальмитата. монолаурата и мономиристата; 5% диглицеридов: 1,2- и 1,3-дистеарата; 1,2- и 1,3-дипальмитата и др. В некоторых марках Е471 моно- и диглицериды содержатся примерно в равных количествах [171]. По числу атомов углерода

в остатках ЖК эти смеси должны соответствовать фракциям моноглицеридов С8-С18 и диглицеридов С26-С36, однако свободные одна или две группы -ОН в молекуле глицерида могут за счет «якорного» взаимодействия с неподвижной фазой повлиять на хроматографическое удерживание моно- и диглицеридов, «замаскировав» их на хроматограммах среди фракций ТАГ с более высоким числом С.

В разделе обсуждены результаты исследований образцов натурального МЖ комплексом валидизированных газохроматографических методик определения жирно-кислотного и триглицеридного состава, а также методики пиролизической газовой хромато-масс-спектрометрии.

ИКС жиров фиксирует инфракрасные колебания различных функциональных групп, позволяет обнаружить, например, *транс*-изомерные двойные связи ЖК, наличие фосфолипидов, а также наличие свободных или ассоциированных групп -ОН [72,172-177], что поможет выявить присутствие моно- и диглицеридов в молочном жире, если это имеет место из-за особенностей кормов или генотипических факторов. По некоторым данным [68,168,198] в натуральном коровьем молочном жире может находиться от 0.5 до нескольких процентов моно- и диглицеридов. Их концентрации в пахте в три раза выше, чем в безводном молочном жире. В молочных липидах преобладают изомеры 1,2-диацилглицеридов, почти полностью исключая 1,3-изомеры.

Был определен состав ЖК в молочном жире коров четырех пород - красно-пестрой, черно-пестрой, голштинской и джерсейской, в переходный период от пастбищного к стойловому содержанию (сентябрь - ноябрь), 18 образцов. Место локации всех коров – Воронежская область, Анненский, Лискинский, Новоусманский, Павловский районы, т.е. в практически одинаковых климатических условиях средней полосы России.

Как известно, красно-пестрая порода коров выведена в России при скрещивании коров симментальской породы с голштинскими быками красно-пестрой масти (для скрещивания использовали генетически ценных быков-

производителей из США и Канады). Порода была утверждена в конце 90-х. Красно-пестрые коровы отличаются выраженным молочным типом, схожим с типом голштинского скота. Молоко этих коров используют для производства сливочного масла и твердых сыров. Чёрно-пёстрая порода – порода крупного рогатого скота, прежде всего, молочного направления продуктивности. Чёрно-пёстрая порода является родственной голландской породе. Выведена в СССР в 1930–1940-е гг. в результате скрещивания местного скота, разводимого в различных зонах страны, с чёрно-пёстрым скотом остфризской, чёрно-пёстрой шведской и других пород, происходящих от голландской породы. Порода утверждена в 1959 г., когда от неё отделили животных с красными окрасами [167].

Голштинская порода является самой распространённой породой молочного скота в мире. Эта порода коров считается одной из лучших в мире по удойности. Голштинская порода была создана в США и Канаде в результате селекции голландской и чёрно-пёстрой породы коров по продуктивности.

Джерсейская порода относится к мелким породам коров молочного направления. Одна из самых старых и жирномолочных культурных пород. Ещё совсем недавно неизвестная в России джерсейская порода занимает сегодня по численности 2-е место в мире после голштинской породы, причём её популяция стремительно растёт из-за того, что при меньших потребностях в жизненном пространстве, меньшем потреблении корма (более низких затратах на кормление, составляющих 60 % себестоимости молока), джерсейская порода показывает конверсию корма на 30 % превосходящую голштинскую породу, а её молоко ценится как минимум на 20 % выше молока других пород. Джерсейская порода выведена в Англии на острове Джерси путём улучшения местного нормандского и британского скота и отбора его по жирномолочности [167].

В табл. 4.7 приведены результаты определения состава ЖК в молочном жире. Для наглядности на диаграмме (рис.4.8) в качестве примера дано распределение ЖК по молекулярной массе для джерсейской породы. По

отдельным ЖК, как видно из табл. 4.7, наблюдаются определенные отклонения от норматива.

Таблица 4.7. Жирнокислотный состав коровьего молочного жира, %

Жирная кислота	Норма ГОСТ 32261- 2013				
		1	2	3	4
Масляная C4:0	2.4-4.2	2.32-3.45	2.10-3.50	3.30-3.50	2.98-4.00
Капроновая кислота C6:0	1.5-3.0	1.30-2.51	1.30-2.52	1.30-1.50	1.95-2.80
Каприловая кислота C8:0	1.0-2.0	0.80-1.45	0.70-1.55	0.70-1.00	1.50-1.55
Каприновая кислота C10:0	2.0-3.8	1.80-3.25	1.40-3.80	1.40-2.20	2.70-3.31
Деценная кислота C10:1	0.2-0.4	0.24-0.52	0.2-0.4	0.2-0.21	0.31-0.40
Лауриновая кислота C12:0	2.0-4.4	2.3-3.96	1.70-4.70	1.7-1.9	3.1-4.35
Миристиновая кислота C14:0	8.0-13.0	9.5-12.08	6.80-13.10	6.8-8.0	10.88-11.19
Миристолеиновая кислота C14:1	0.6-1.5	0.71-2.0	0.70-1.90	0.7-1.10	0.96-1.40
Пальмитиновая C16:0	21.0-33.0	23.9-38.31	22.4-38.2	22.4-24.8	22.8-34.13
Пальмитолеиновая кислота 16:1	1.5-2.4	1.2-2.97	1.90-2.50	2.0-2.2	1.58-1.71
Стеариновая кислота C18:0	8-13.5	4.54-14.74	5.8-13.2	6.9-13.2	9.45-13.4
Олеиновая кислота C18:1	20-32	17.21-31.6	15.5-36.6	20.74-36.6	19.04-21.30
Линолевая кислота C18:2	2.2-5.5	2.0-3.91	2.10-4.0	2.7-4.0	2.43-3.48
Линоленовая кислота C18:3	до 1.5	0.05-1.44	0.3-1.00	0.8-0.9	0.24-0.60
Бегеновая кислота C22:0	до 0.1	0.02-0.30	0-0.30	0-0.1	0-0.2
Арахидиновая кислота C20:0	до 0.3	0-0.3	0.1-0.21	0.2-0.3	0.02-0.4

Примечание: 1 – красно-пестрая порода; 2 – голштинская; 3 – черно-пестрая; 4 – джерсейская порода

Фальсификация молочного жира исключена, поскольку молоко было отобрано под непосредственным контролем авторов исследования и самими экспериментаторами получена жировая фаза в лабораторных условиях. Отсюда можно было бы сделать вывод, что ГОСТ 32261-2013 дает несколько зауженный диапазон варьирования ЖК, не вполне учитывающий

индивидуальные особенности жирно-кислотного состава коров разных пород, сезон, климатические условия и рацион питания этих коров.

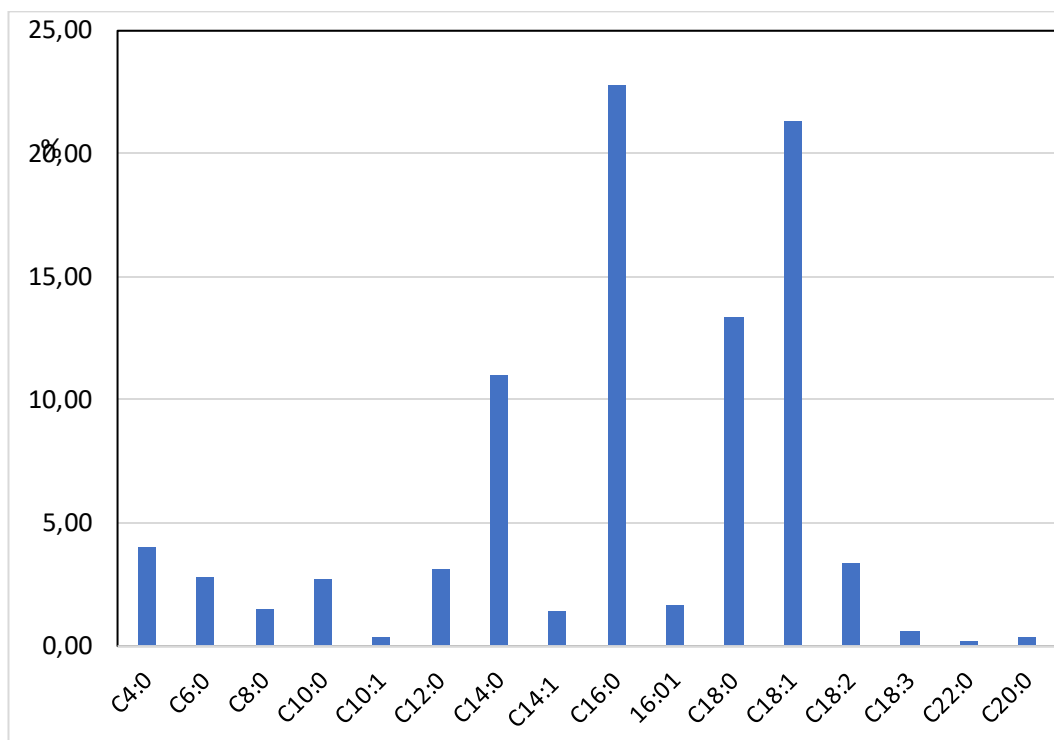


Рис 4.7. Диаграмма содержания ЖК в молочном жире коров джерсейской породы

В ГОСТ 32261-2013 допустимый диапазон содержания ЖК уже был расширен для отдельных кислот по сравнению с ГОСТ Р52253-2004. Возможно, норматив следует еще раз пересмотреть. Если взглянуть на цифры в табл. 4.7, то можно отметить, что в пределах допустимых границ погрешностей определения (для содержания менее 5%  $\Delta=\pm 0.4$ , а для более 5%  $\Delta=\pm 2.2$ ), большинство показателей соответствуют нормативам, но находятся близко к нижней или верхней границам допустимых диапазонов содержания ЖК. Т.е. для содержания, например, 1.0% допустимы значения  $1.0\pm 0.4$  (т.е.  $\pm 40$  отн. %); а для 10.0 имеем  $10.0\pm 2.2$  (т.е.  $\pm 22$  отн. %)

Если содержание той или иной ЖК в ТАГ натурального жира или масла, не подвергшихся фракционированию, химическим и термическим воздействиям, падает или возрастает в зависимости от породы, питания, сезона и других климатических факторов (для животных жиров), сорта (для

растительного сырья) и т.д., содержание другой ЖК может симбатно возрастать или уменьшаться. Соблюдение диапазонов, в рамках которых содержание ЖК может варьировать, сохраняя при этом природные корреляции, обусловленные генотипическими и фенотипическими факторами, является признаком натуральности данного жира. Проверим на нашей выборке соблюдение природных корреляций, описанных ранее в [12] на основании статистических данных для 50 образцов коровьего молочного жира (табл. 3.8).

Низшие ЖК C6:0, C8:0, C10:0, среднемолекулярные C12:0, C14:0, как правило, изменяют свое содержание симбатно относительно друг друга, но при этом наблюдаются отрицательные корреляции их содержания к содержанию высокомолекулярных кислот – стеариновой и олеиновой (C18:0 и C18:1), такая же закономерность характерна для пальмитиновой кислоты (C16:0), ее количество обратно пропорционально количеству стеариновой и олеиновой кислот.

Можно ли оценить по составу ЖК молочный жир коров разных пород? На рис. 4.8 представлена диаграмма сопоставления содержания 7 основных ЖК молочного жира 4 пород, из которой заметно, что при прочих равных условиях содержания, климата и питания джерсейской породе характерно сравнительно большее количество насыщенных ЖК C10:0, C12:0, C14:0, C16:0 и заметно меньшее количество ненасыщенных кислот C18:1 и C18:2, в то время как для черно-пестрой породы характерны обратные соотношения. Голштинская и красно-пестрая породы характеризуются промежуточными значениями C16:0, C18:0 и C18:1. Рассмотрим триглицеридный состав молочного жира (табл.4.9). На рис. 4.9 и 4.9а представлена последовательность удерживания триглицеридов, согласно ГОСТ ISO 17678-2015. Из табл.4.9 видно, что нормированные диапазоны содержания ТАГ более узкие для отдельных фракций ТАГ, следовательно, их следует расширить хотя бы с учетом погрешностей определения как минимум на  $\Delta=\pm 3\%$ .

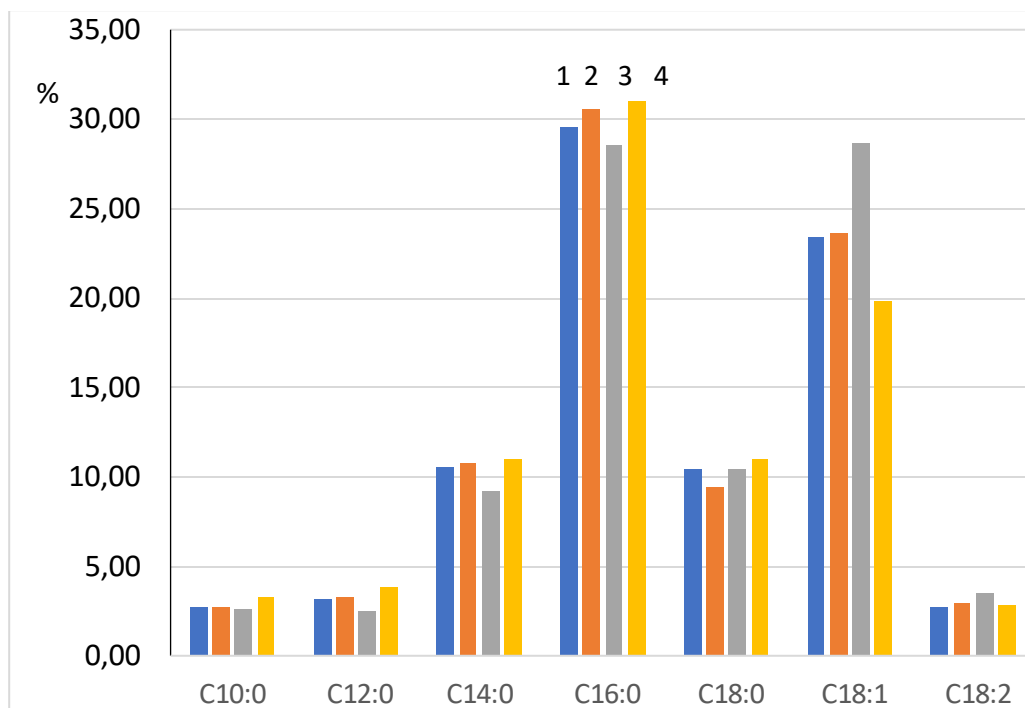


Рис.4.8. Содержание 7 основных ЖК в молочном жире коров разных пород: 1 – красно-пестрая порода; 2 – голштинская порода; 3 – черно-пестрая порода; 4 – джерсейская порода

На рис. 4.10 для наглядности представлена диаграмма усредненного содержания фракций ТАГ в молочном жире коров джерсейской породы. С некоторыми вариациями, обусловленными содержанием в ТАГ жирных кислот, также выглядят графики для двух других пород [192].

Оценим наличие природных корреляций между отдельными фракциями ТАГ (табл.4.10) [71,72,192]. Как видно из табл. 4.10, между содержанием ТАГ существуют более тесные и более многочисленные корреляции, чем между содержанием жирных кислот. Для отдельных фракций триглицеридов абсолютное значение  $R > 0.900$ . При этом наблюдаются симбатный рост содержания низко- и среднемолекулярных ТАГ, например, C30, C32, C34, C38, C42, C44, и асимбатное этому росту понижение концентрации высших ТГ C50, C52 и C54. В качестве примера на рис. 4.11 и 4.12 в качестве примера приведены 2 тесные корреляции.

Таблица 4.8 Корреляции между содержанием в коровьем молочном жире ЖК, n=18

Соотношение ЖК	Корреляция	Коэффициент парной корреляции R
C6:0/C8:0	$y=0.48x+0.26$	0.852
C8:0/C10:0	$y=2.47x-0.23$	0.931
C8:0/C12:0	$y=2.68x-0.05$	0.792
C8:0/C14:0	$y=5.22x+4.12$	0.766
C8:0/C18:1	$y=46.98-18.99x$	-0.839
C10:0/C12:0	$y=1.14x+0.05$	0.895
C10:0/C14:0	$y=2.16x+4.48$	0.843
C10:0/C16:0	$y=5.62x+14.16$	0.755
C10:0/C18:0	$y=45.09-7.65x$	0.898
C10:1/C14:0	$y=17.38x+5.03$	0.762
C10:1/C18:1	$y=41.47-56.06x$	0.739
C12:0/C14:0	$y=1.88x+4.45$	0.932
C12:0/C16:0	$y=5.02x+15.66$	0.858
C12:0/C18:0	$y=16.75-2.02x$	0.727
C12:0/C18:1	$y=44.24-6.34x$	-0.947
C14:0/C16:0	$y=2.28x+5.88$	0.785
C14:0/C18:0	$y=20.51-0.98x$	-0.708
C14:0/C18:1	$y=57.14-3.17x$	-0.955
C16:0/C18:0	$y=23.75-0.46x$	-0.925
C16:0/C18:1	$y=50.21-0.88x$	-0.752

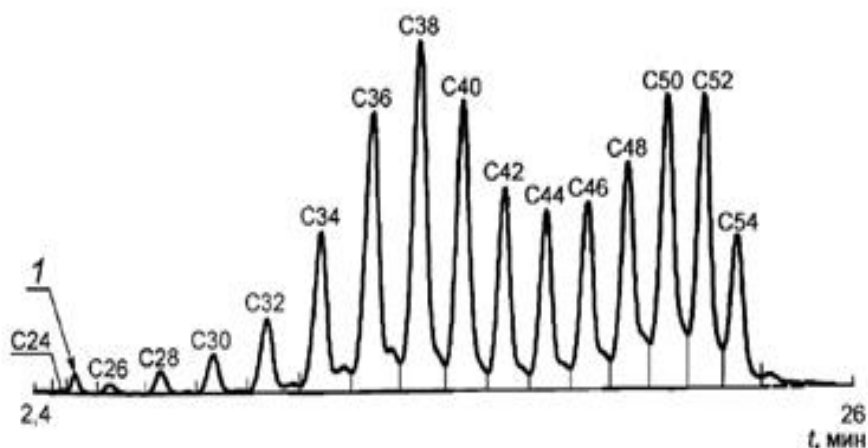


Рис. 4.9. Порядок удерживания ТАГ молочного жира. 1 – холестерин. ГОСТ ISO 17678-2015

На соотношения ТАГ влияют и генотипические, и фенотипические факторы, которые можно разделить в дальнейшем при проведении специальных опытов. Очевидно лишь то, что при изменении любого из

них состав ТАГ не меняется случайным образом, а в соответствии с биохимическими процессами, формирующими этот состав.

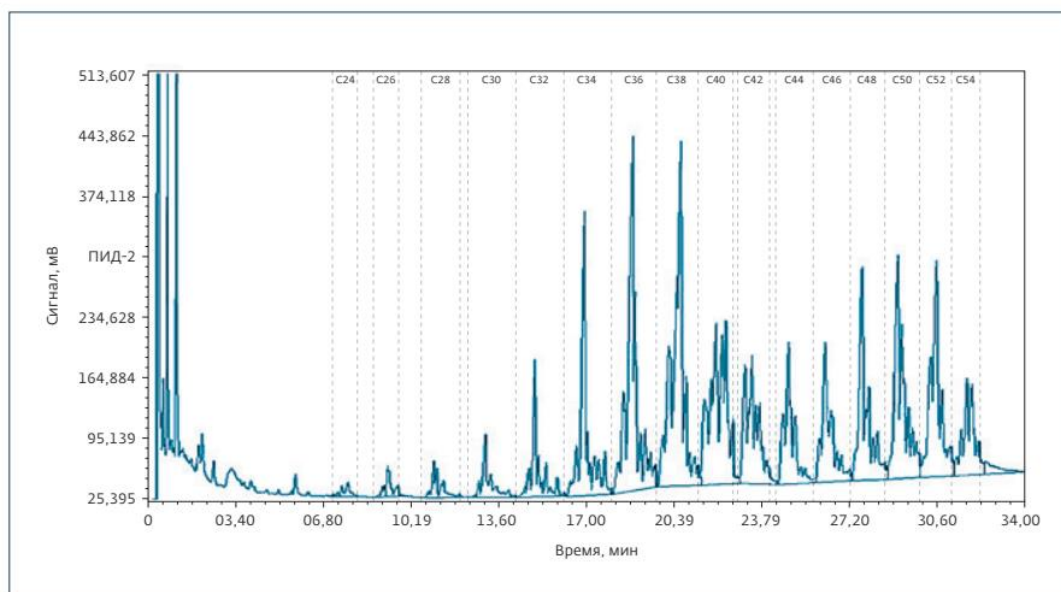


Рис. 4.9а. Хроматограмма ТАГ молочного жира по ГОСТ ISO 17678-2015

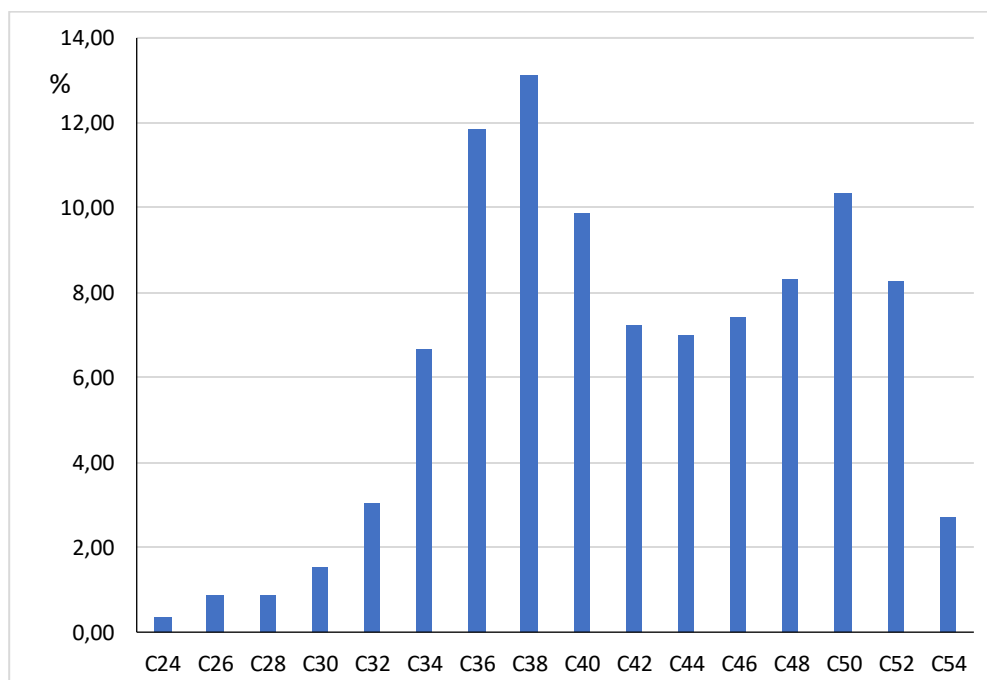


Рис. 4.10. Содержание фракций ТГ в молочном жире коров джерсейской породы

Таблица 4.9. Триглицеридный состав коровьего молочного жира, %

Фракция ТАГ	Норматив по ГОСТ	1	2	4
C24	0.15-0.39	0.44-0.72	0.49-0.50	0.26-0.46
C26	0.51-1.05	0.99-1.09	0.95-0.96	0.69-1.02
C28	0.76-1.19	1.04-1.10	0.99-1.00	0.61-1.16
C30	1.27-1.78	1.70-1.86	1.64-1.67	1.07-1.96
C32	2.54-3.34	3.12-3.72	3.08-3.21	2.34-3.77
C34	4.01-8.02	6.66-8.22	6.46-6.68	5.77-7.64
C36	9.08-14.01	11.61-13.02	11.08-11.35	11.63-12.09
C38	11.04-15.09	11.54-13.32	11.93-13.30	12.57-13.69
C40	9.02-13.01	8.40-10.3	9.18-11.06	9.85-9.92
C42	6.57-7.57	5.81-8.43	7.05-7.36	6.40-8.10
C44	4.52-7.04	5.18-8.28	6.23-7.74	6.11-7.87
C46	5.01-6.59	5.78-9.23	6.52-8.21	8.67-7.97
C48	6.51-10.40	7.36-10.39	7.72--9.79	7.87-8.77
C50	8.06-12.08	9.30-10.22	9.74-10.82	9.04-11.69
C52	7.08-11.02	4.66-10.72	8.99-7.92	6.15-10.41
C54	2.01-4.07	0.72-5.48	2.21-4.38	1.70-3.77

Примечание: 1 – красно-пестрая порода; 2 – голштинская порода; 4 – джерсейская порода

Таблица 4.10. Матрица корреляций между содержанием ТАГ в натуральном молочном жире, n=7

Соотношение ТАГ	Корреляция	Коэффициент парной корреляции R
C24/C26	$y=0.72x+0.60$	0.855
C26/C50	$y=15.33-5.48x$	-0.752
C26/C32	$y=2.87x+0.47$	0.764
C26/C30	$y=1.96x-0.23$	0.880
C 26/C28	$y=1.35x-0.30$	0.958
C28/C30	$y=1.54x+0.12$	0.977
C28/C32	$y=2.40x+0.84$	0.900
C28/C34	$y=3.21x+3.68$	0.731
C28/C50	$y=14.45-4.41x$	-0.853
C30/C50	$y=14.88-2.90x$	-0.888
C30/C34	$y=2.30x+3.07$	0.827
C30/C32	$y=1.62x+0.53$	0.965
C32/C34	$y=1.53x+1.95$	0.925
C32/C50	$y=15.36-1.65x$	-0.849
C32/C52	$y=20.55-3.93x$	-0.820
C34/C52	$y=25.02-2.49x$	-0.859
C34/C38	$y=18.30-0.80x$	-0.795
C34/C36	$y=0.64x+7.45$	0.790

C38/C52	$y=2.16x-19.78$	0.754
C38/C48	$y=25.63-1.33x$	-0.948
C38/C46	$y=25.35-1.24x$	-0.844
C38/C40	$y=0.86x-1.19$	0.827
C40/C46	$y=18.53-1.13x$	0.796
C42/C44	$y=1.20x-1.68$	0.942
C42/C46	$y=0.98x+0.36$	0.786
C42/C52	$y=23.82-2.19x$	0.898
C42/C54	$y=14.80-1.64x$	0.888
C44/C54	$y=12.94-1.44x$	-0.987
C44/C52	$y=20.69-1.82x$	-0.949
C44/C48	$y=0.78x+3.15$	0.834
C44/C46	$y=0.93x+0.97$	0.943
C46/C48	$y=0.91x+1.82$	0.954
C46/C52	$y=21.19-1.77x$	-0.908
C46/C54	$y=13.64-1.44x$	-0.972
C48/C54	$y=14.45-1.34x$	-0.865
C48/C52	$y=22.19-1.55x$	-0.808
C52/C54	$y=0.71x-2.78$	0.937

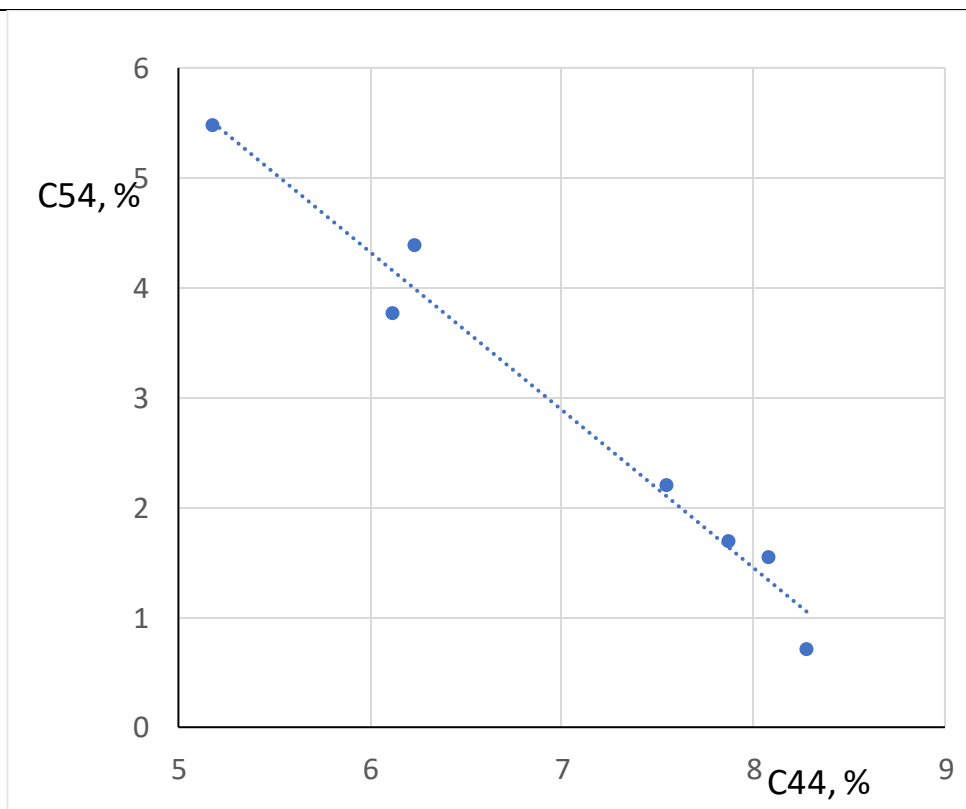


Рис. 4.11. Корреляция между содержанием в молочном жире ТГ С44 и С54

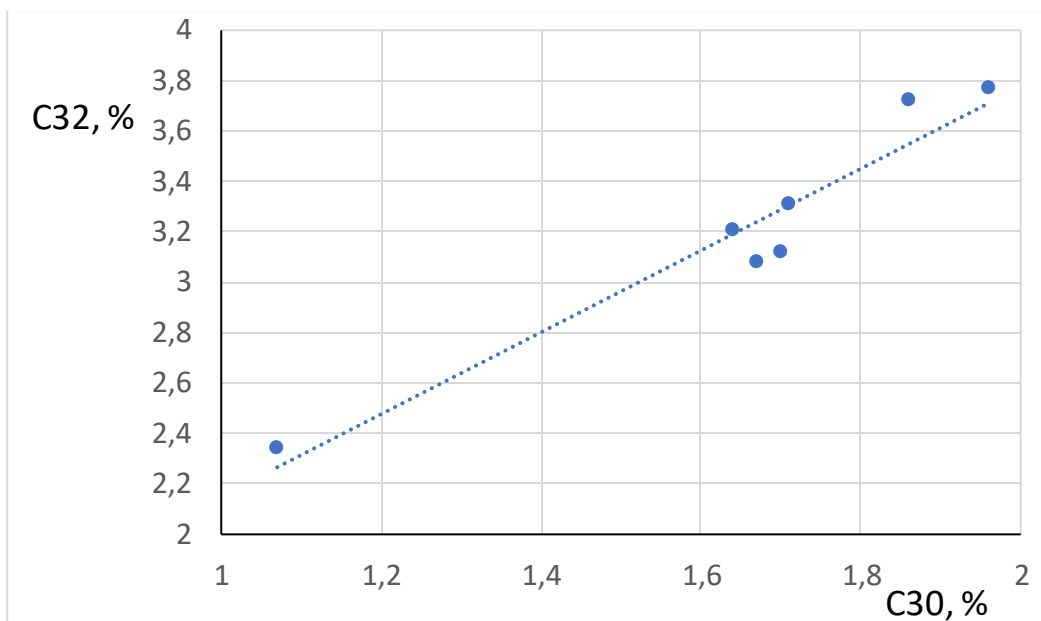


Рис. 4.12. Корреляция между содержанием в молочном жире ТАГ С30 и С32

На рис. 4.13-4.14 представлен ИК-спектр типичного образца молочного жира коров (полученного сразу после дойки), а также образца сливочного масла, приобретенного в торговой сети. В табл. 4.11 дана интерпретация выявленных колебаний функциональных групп [172-177]. Сравнение ИК-спектров образцов молочного жира показывает, что общими полосами поглощения являются максимумы в области  $2924-2923\text{ см}^{-1}$ , которые характерны для валентных асимметричных колебаний  $\nu_{\text{as}}\text{ CH}$  и  $\text{CH}_2$  групп;  $2855-2853\text{ см}^{-1}$ , которые характерны для валентных симметричных колебаний  $\nu_{\text{s}}$  этих групп. Наличие данных групп подтверждается также присутствием в ИК-спектрах полос поглощения  $1465-1462\text{ см}^{-1}$  (ножничные колебания  $\sigma\text{ CH}_2$  в группах  $-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$ );  $1378-1374\text{ см}^{-1}$  (ножничные колебания  $\sigma_{\text{s}}$  групп  $-\text{CH}_3$  в алифатических цепочках);  $1174-1160\text{ см}^{-1}$  (маятниковые колебания метильных групп  $\gamma_{\text{r}}$ );  $1114-1105\text{ см}^{-1}$  (ножничные колебания  $\sigma_{\text{s}}$  в группах  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_3$ );  $722-713\text{ см}^{-1}$  (крутильные колебания  $\gamma_{\text{t}}\text{ CH}$  в группах  $\text{RCH}=\text{CHR}'$ ). Наряду с этим, во всех ИК-спектрах образцов молочного жира наличествуют пики  $1746-1742\text{ см}^{-1}$  (валентные колебания  $\text{C}=\text{O}$  в группах  $-\text{C}-\text{O}-\text{C}(\text{R})=\text{O}$ );  $1239-1235\text{ см}^{-1}$  (валентные асимметричные колебания  $\nu_{\text{as}}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$  в сложных эфирах) (см. табл. 4.11).

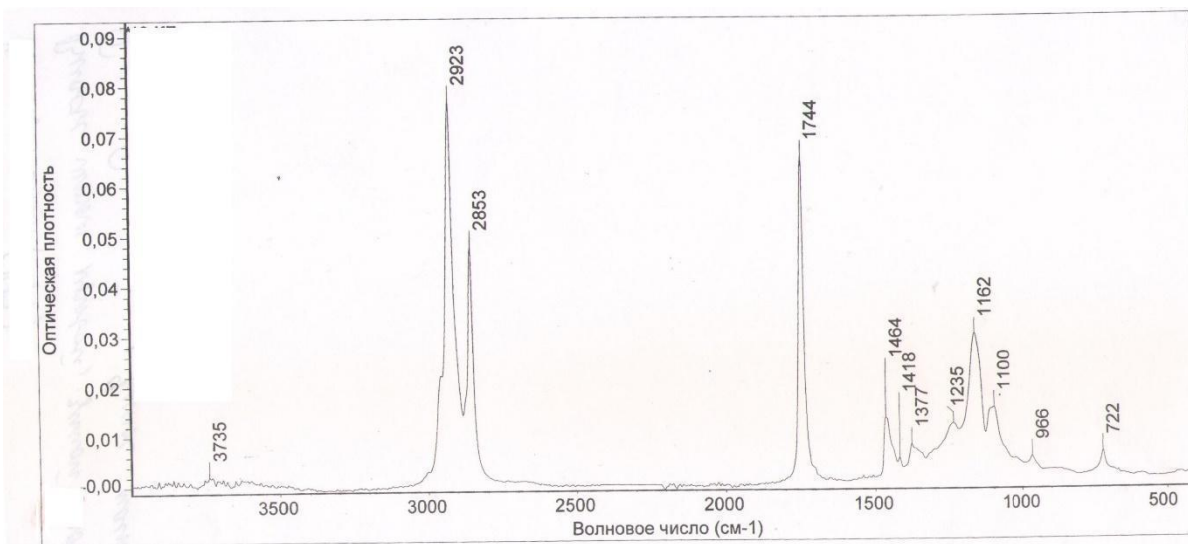


Рис.4.13. ИК-спектр молочного жира коровы красно-пестрой породы, луговой выпас, частное хозяйство. с. Ямное Воронежской области

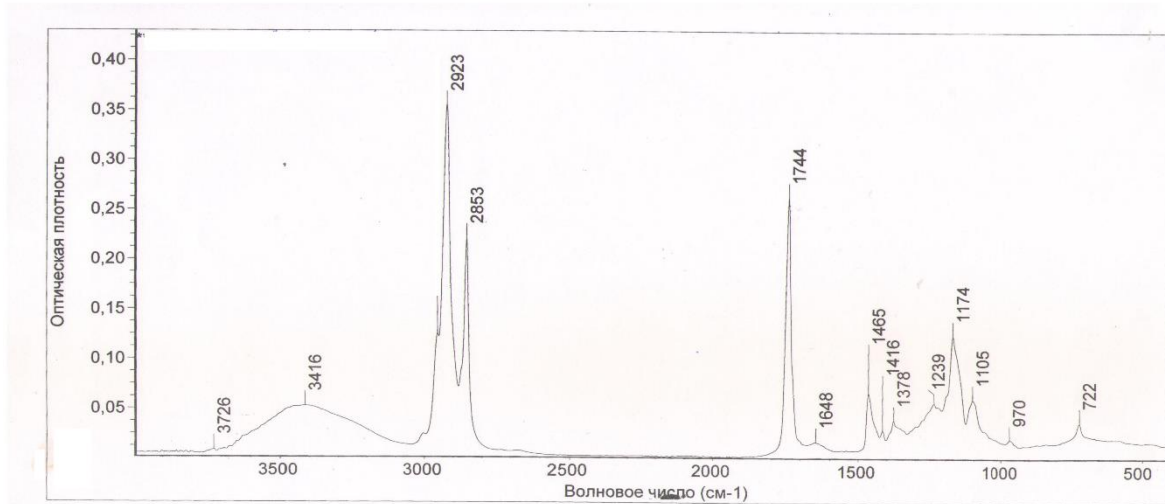
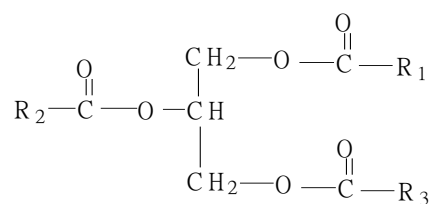


Рис. 4.14. ИК-спектр сливочного масла, произведенного из молока коров голштинский породы

Вышеуказанные факты свидетельствуют в пользу того, что образцы молочного жира коров черно-пестрой, красно-пестрой, джерсейской и голштинской пород содержат преимущественно триацил-L-глицериды:



где  $R_i$  – остатки жирных кислот. Однако в ИК-спектрах молочного жира коров голштинской породы имеются полосы поглощения  $3739-3726 \text{ см}^{-1}$  (валентные

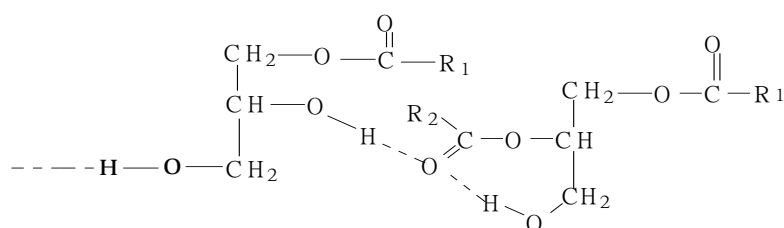
колебания  $\nu$  неассоциированных групп  $-\text{OH}$ );  $3416\text{--}4308\text{ см}^{-1}$  (валентные колебания  $\nu\text{ OH}\cdots\text{O}$  в спиртовых группах);  $1549\text{ см}^{-1}$  (валентные колебания в  $\beta$ -кетоксидах) [172-177]. Указанные максимумы отсутствуют в ИК-спектрах образцов молочного жира коров других пород.

Таблица 4.11. Отнесение полос поглощения в ИК-спектрах МЖ,  $\text{см}^{-1}$

Черно-пестрая. красно-пестрая. джерсейская породы	Голштинская	Сливочное масло из молочного жира голштинской породы	Отнесение полос поглощения функциональных групп
-	3739*	3726*	$\nu\text{ OH}$ в спиртах. свободные
-	3408	3416	$\nu\text{ OH}\cdots\text{O}$ в спиртах ассоциированных
2924	2923	2923	$\nu\text{ CH}$ и $\text{CH}_2$ асимметричные
2854	2855	2853	$\nu\text{ CH}$ и $\text{CH}_2$ симметричные
1746	1742	1744	$\nu\text{ C=O}$ в группах $\text{C-O-C(R)=O}$
-	1645	1648*	$\nu\text{ C=C}$ в $\text{RCH=CHR}'$ ( <i>транс</i> )
-	1549	-	$\nu\text{ C=O}$ в $\beta$ -кетоксидах
1465	1462	1465	Ножничные $\text{CH}_2$ ; $\sigma\text{ CH}_2$ в $-\text{CH}_2\text{-CO-}$
1418	1416	1416	
1378	1374	1378	$\sigma_s\text{ CH}_3$ в алифатических цепях
1239	1235	1238	$\nu_{\text{as}}$ в $-\text{C-O-C-}$ в сложных эфирах
1165	1160	1174	Маятниковые $\gamma_t$ метильной группы
1114	1108	1105	Ножничные $\text{CH}$ в $\text{CH}_2$ и $\text{CH}_3$
966	-	970	Веерные $\gamma_w\text{ CH}$ в $\text{RCH=CHR}'$
722	713	722	Крутильные $\gamma_t\text{ CH}$ в $\text{RCH=CHR}'$
-	647	-	

\*слабые колебания

Очевидно, в молочном жире коров голштинской породы наряду с триацил- $\text{L}$ -глицеридами присутствуют 1,2-диацилглицериды и/или 1-ацилглицериды, способные образовывать водородные связи:



Заслуживает внимания максимум в ИК-спектре коров голштинской породы при  $1645\text{ см}^{-1}$  (валентные колебания  $\nu\text{ C=C}$  в  $\text{RCH=CHR}'$ ) и  $673\text{ см}^{-1}$  (крутильные  $\gamma_t$  колебания  $\text{CH}$  в  $\text{RCH=CHR}'$ ), которые обусловлены наличием

остова ненасыщенной жирной кислоты, преимущественно располагающейся у второй гидроксильной группы глицерина. Сливочное масло, приобретенное в торговой сети, имеет размытую широкую полосу с максимумом при  $3416\text{ см}^{-1}$  и слабую полосу при  $1648\text{ см}^{-1}$ . Полоса  $3416\text{ см}^{-1}$  отвечает колебаниям группам  $\text{-OH}$ , связанных водородными связями в ассоциатах, а полоса  $1648\text{ см}^{-1}$  характерна для двойной связи в *транс*-изомерах. Вероятней всего в этом образце полоса  $3416\text{ см}^{-1}$  обусловлена наличием в сливочном масле смеси моно- и диглицеридов, используемых в качестве кормовой или пищевой добавки E471, как эмульгатор-стабилизатор. При проверке ИК-спектра молочного жира коров голштинской породы, полученного непосредственно после дойки на предприятии той же фирмы, выпускающей сливочное масло, опять же найдена полоса группы  $\text{-OH}$ , отсутствующая в молочном жире других пород. Это может означать, что в кормах коров скорее всего содержалась добавка E471. Специалисты считают, что эта добавка повышает удойность коров. Пищевая добавка E471 имеет международный статус GRAS, который позволяет использовать ее без ограничений. В качестве эмульгатора E471 улучшает реологические свойства сливочного масла [168].

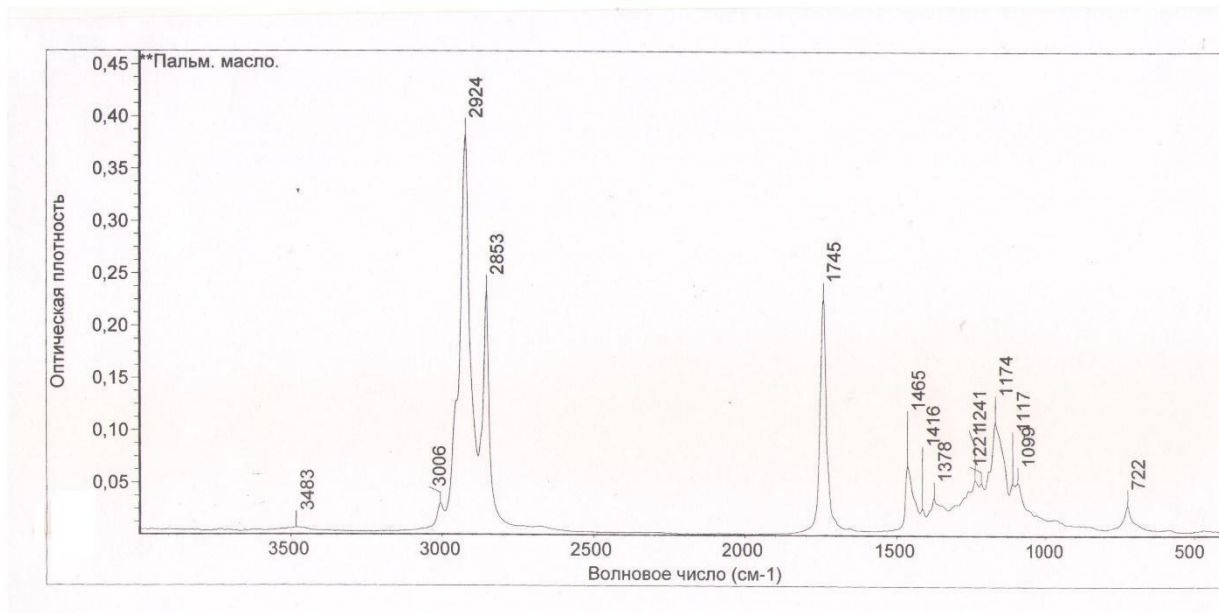


Рис. 4.15. ИК-спектр пальмового масла

Следует отметить, что в ИК-спектрах, пальмового масла имеются полосы поглощения  $1221\text{ см}^{-1}$  и  $1099\text{ см}^{-1}$ , которые отсутствуют в ИК-спектрах коровьего жира и отвечают за валентные колебания метильных групп в третичнометильных группировках и валентные колебания в ацеталях, фрагменты которых могут присутствовать в жирно-кислотных цепочках пальмового масла. Характерными только для растительных масел являются полосы в области  $3009\text{-}3006\text{ см}^{-1}$  ( $\nu\text{ CH}$  в  $\text{RCH}=\text{CHR}'$ ), не выраженные для молочного жира. Является ли наличие заметных количеств моно- и диглицеридов особенностью жира голштинских коров, или это результат приема кормов с пищевой добавкой E471? Содержание моно- и диглицеридов в молоке может быть результатом липолиза молочной жира из-за неправильного обращения с молоком и его хранения. Однако было ранее показано, что диглицериды естественным образом содержатся в свежем сдоенном молоке, это позволяет предположить, что некоторые из диглицеридов, содержащихся в молоке, являются промежуточными звеньями в биосинтезе ТАГ, а не продуктами распада, даже незначительные количества таких липидов, содержащихся в молочном жире, даже в тех низких концентрациях, которые обычно встречаются в природе, могут существенно влиять, например, на кристаллизацию и плавление молочного жира.

Таким образом, подтверждено наличие тесных природных корреляций между некоторыми отдельными жирными кислотами, впервые выявлены еще более тесные природные корреляции между содержанием в молочном жире фракций триглицеридов. Найденные корреляции могут служить критериями натуральности молочного жира и отнесения образца молочного жира к определенной породе коров. Нарушение выявленных корреляций может указывать на внесение в продукт жиров-заменителей, фракционирование, переэтерификацию или иное физико-химическое воздействие на образец масложирового сырья. Методом ИКС обнаружено присутствие в молочном жире моно- и диацилглицеридов [177].

*Пиролитическая хромато-масс-спектрометрия молочного жира.*  
Образцы молочного жира и некоторых образцов сливочного масла, приобретенных в торговой сети, проанализировали методом пиролитической хромато-масс-спектрометрии (ПХМС) [178,190,203].

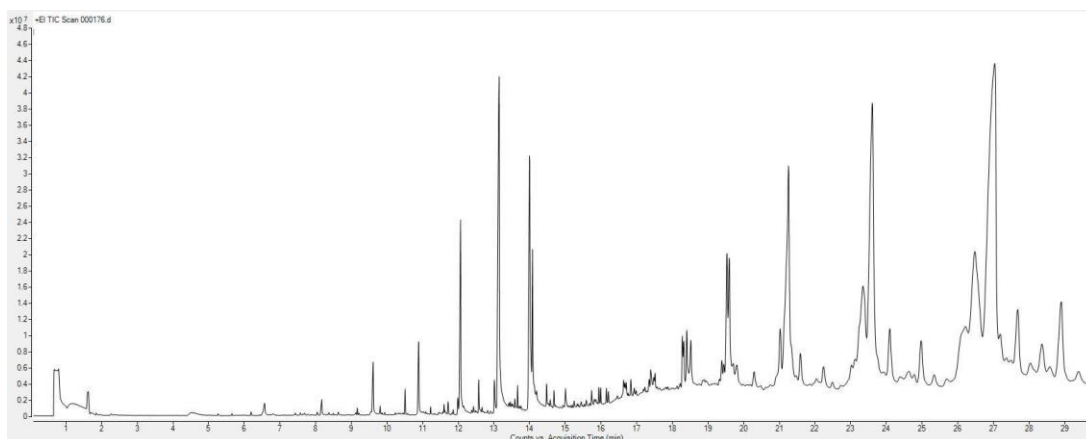


Рис. 4.16. Пирохроматограмма молочного жира голштинской породы коров

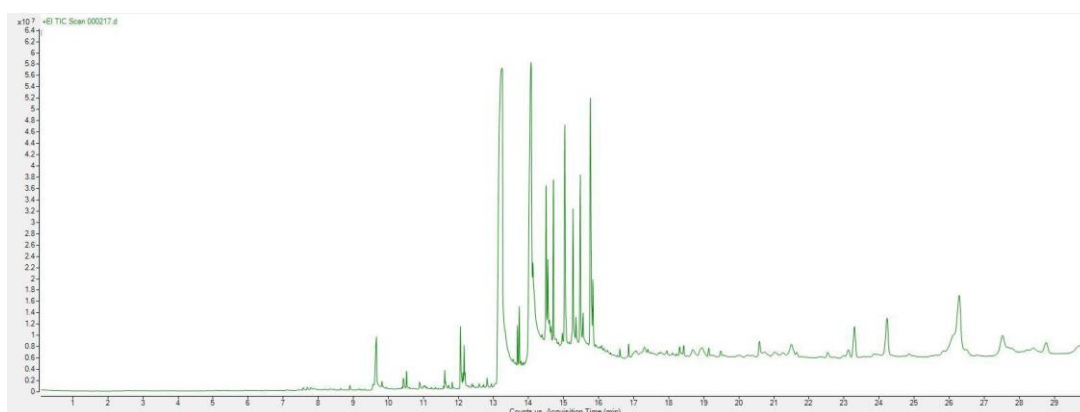


Рис.4.17. Пирохроматограмма пальмового масла

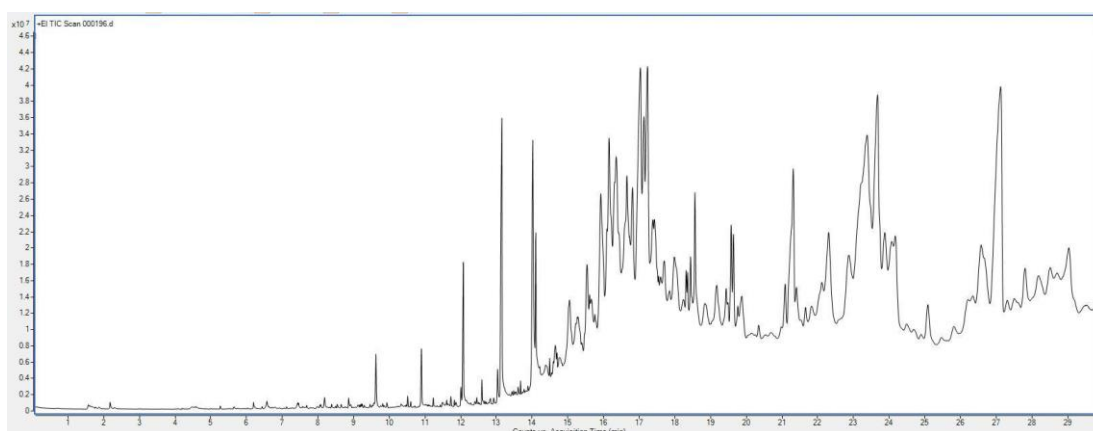


Рис. 4.18. Пирохроматограмма образца некачественного (фальсифицированного) сливочного масла

На рис. 4.16-4.18 приведены в качестве примера образцы пирохроматограмм молочного жира коров голыштинской породы, пальмового масла и фальсифицированного сливочного масла.

Приемлемыми оказались условия хроматографирования: 400 градусов печь, нагреватель 300 °С, деление потока 100:1 120 мл/мин, начальная температура термостата 220 °С, выдержка 2 мин, рост температуры 20 градусов/мин до 320 градусов после достижения 320 °С время выдержки 20 мин. Температура интерфейса MSD 300 °С.

Уже по профилю пирохроматограмм можно отчетливо различить молочный жир, пальмовое масло и фальсификат, в который добавлены немолочные жиры. В отличие от пиролитической хроматографии с применением ПИД, вариант ПХМС позволяет по библиотеке масс-спектров идентифицировать некоторые пики на пирохроматограмме.

Таблица 4.12. Результаты идентификации пиков на пирохроматограмме МЖ

Времена удерживания, мин	Соединение	Совпадение с библиотечным спектром NIST 20, %
6.509-6.587	Гексановая кислота	90
9.153-9.191	Тридекан	97
9.561-9.632	Декановая кислота	98
10.487-10.526	Пентадекан	97
10.837-10.915	Додекановая кислота	99
11.200-11.239	Тетрадеканаль	99
12.016-12.081	Тетрадекановая кислота	99
13.073-13.163	Гексадекановая кислота	99
13.941-14.032	Олеиновая кислота	99
14.051-14.116	Стеариновая кислота	99
14.667-14.699	Глицедилпальмитат	83
15.710-15.755	1,9- тетрадекадиен	93
16.818-16.857	Сквален	99
18.470-18.548	Холестерол	95

В табл. 4.12-4.13 приведены результаты идентификации отдельных пиков продуктов пиролиза при тех или иных временах удерживания молочного жира и пальмового масла. Для расшифровки масс-спектров использовали базу данных NIST 20. На рис.4.19 и 4.20 приведены примеры идентификации пальмитиновой и олеиновой кислот по масс-спектру.

Таблица 4.13. Результаты идентификации пиков на пирохроматограмме пальмового масла

Времена удерживания, мин	Соединение	Совпадение с библиотечным спектром NIST 20, %
9.593-9.684	Декановая кислота	98
12.114-12.153	цис-7-додецен-1-ил ацетат	91
12.807-12.865	9-октадеканаль	97
12.146-12.185	3-октадецен	99
12.029-12.120	Тетрадекановая кислота	99
13.053-13.442	Гексадекановая кислота	99
13.727-13.753	Нонадецен	98
13.980-14.122	Олеиновая кислота	91
15.749-15.807	Тетрадекадиен	98

Library Searched : C:\MassHunter\Library\NIST20.L  
 Quality : 99  
 ID : n-Hexadecanoic acid

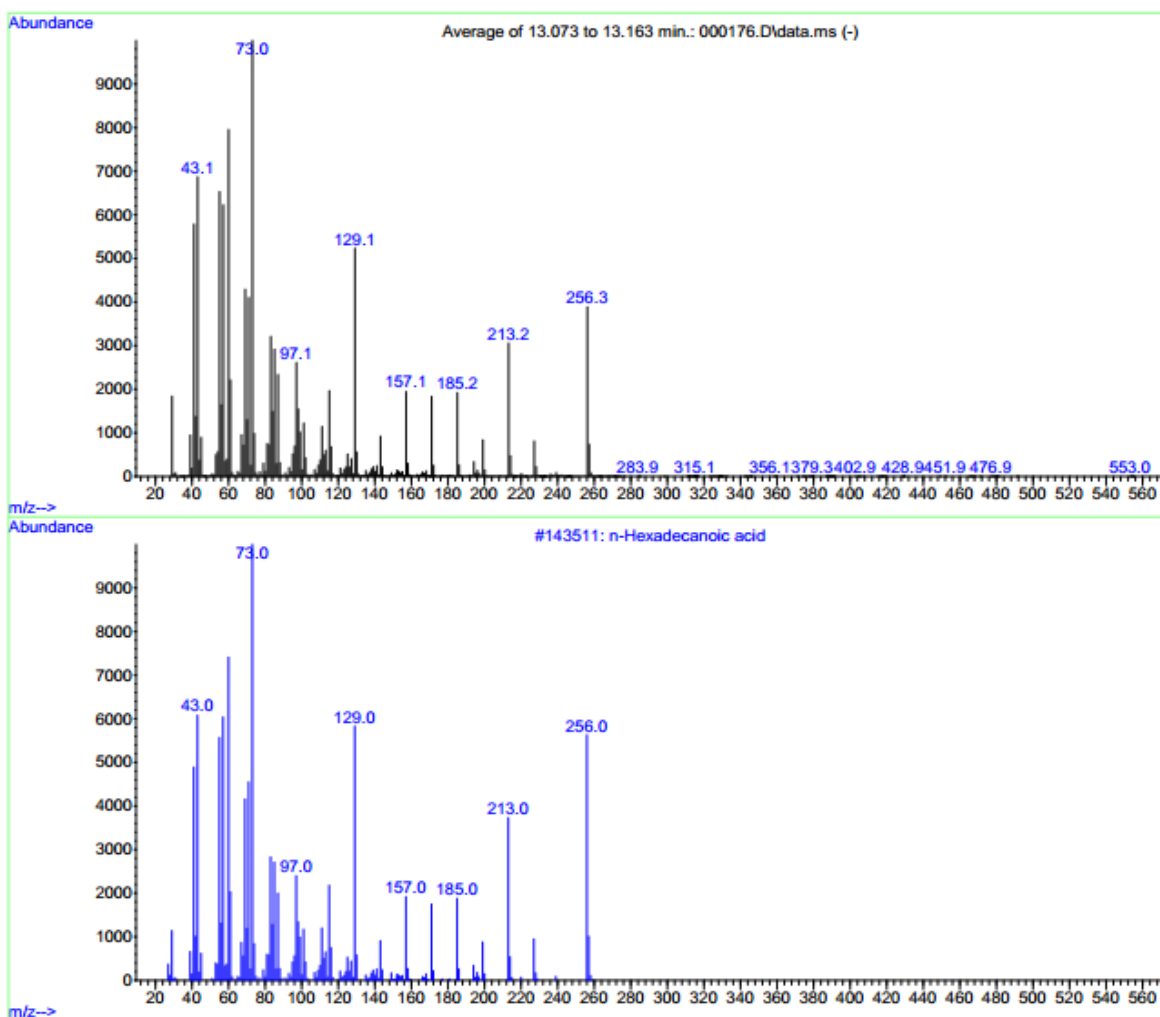


Рис. 4.19. Масс-спектр ЖК С16:0 из экспериментальных данных и библиотеки NIST 20

К сожалению, в библиотеке спектров NIST 20 не нашлось масс-спектров всех продуктов пиролиза. В тоже время наш эксперимент показал перспективность дальнейшего использования ПХМС в изучении продуктов пиролиза и определения по ним натуральности масложировой продукции как минимум методом «отпечатков пальцев» по профилю пирохроматограм. ПХМС, вероятней всего, может дать информацию о том, на что распадаются при жарке пищевые жиры, какие при этом возникают контаминанты, какие режимы жарки наиболее безопасны с точки зрения контаминации.

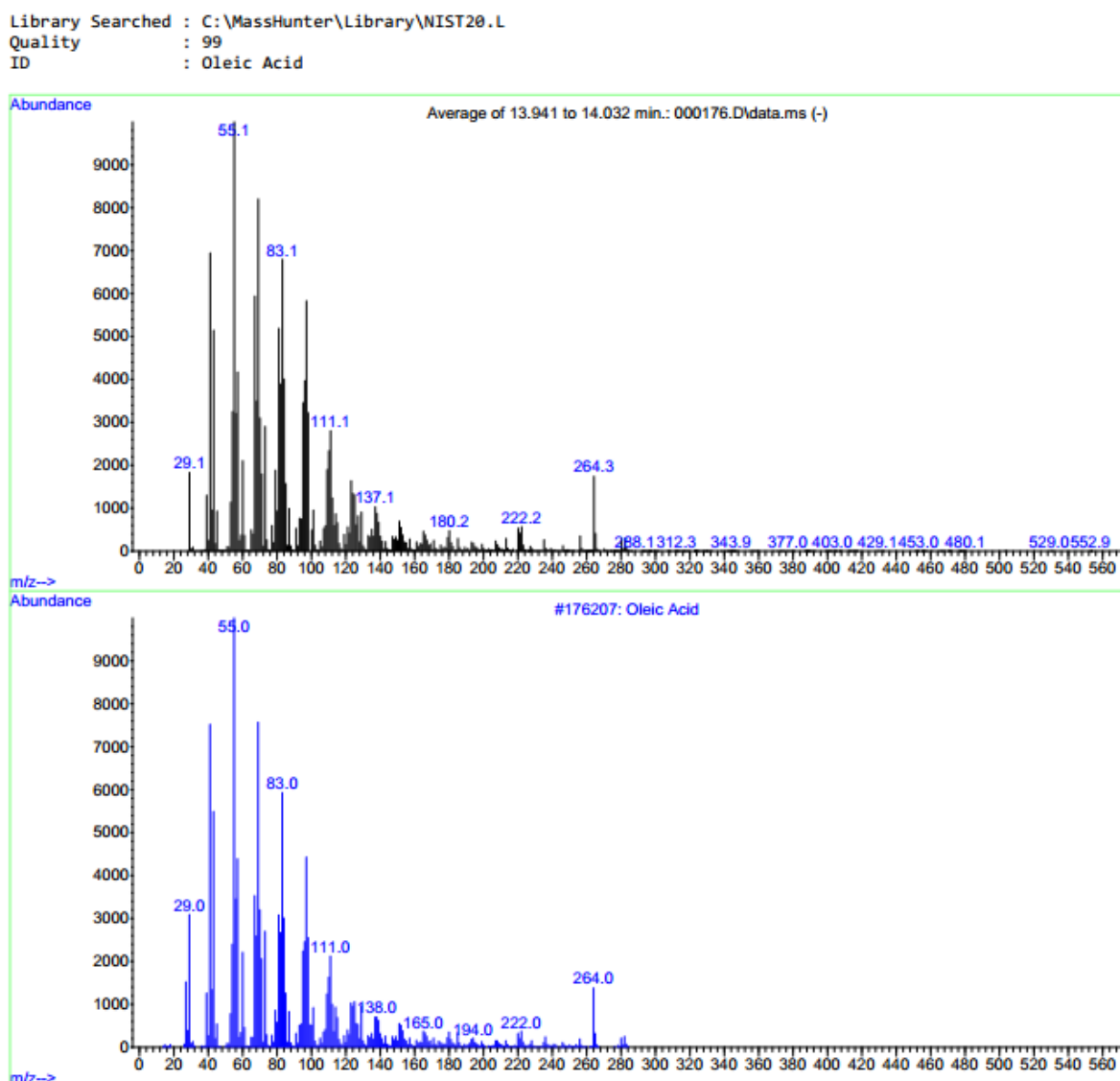


Рис.4.20. Масс-спектр ЖК С18:1 из экспериментальных данных и библиотеки NIST20

## **Глава 5. Дифференциальная сканирующая калориметрия как альтернативный метод контроля качества пищевой продукции**

### **5.1. Дифференциальная сканирующая калориметрия жировой фазы продукции из растительного сырья**

Возможности применения ДСК в контроле аутентичности и качества растительных масел хорошо раскрыты в работах [73,74,81,84,85,187]. В нашем исследовании метод ДСК использован для характеристики масла расторопши дикорастущей (РП). Расторопша пятнистая [*Silybum marianum* (L.) Gaertn] является сырьевым источником ценных биологически активных веществ. Масло РП – ценная биологически активная добавка (БАД) к пище. Наиболее ценными считаются БАД, выделенные из дикорастущего сырья. Необходимо контролировать качество таких БАД, так как они нередко фальсифицируются или разбавляются недорогими маслами, на порядок более дешевыми, чем подлинные БАД. Изучены теплофизические и хроматографические свойства масла плодов РП, дикорастущей в различных районах Дагестана, чтобы установить взаимосвязи характеристичных тепловых эффектов, наблюдаемых на термограммах ДСК плавления с происхождением растительного сырья, опробовать использование полученных данных для проверки подлинности масла РП.

Преимуществом применения метода ДСК для контроля качества и идентификации жировой фазы является его высокая чувствительность к составу масла, метод не требует больших затрат времени, реактивов и растворителей, дополнительного лабораторного оборудования. Как показано в работе [180] на примере оливкового масла по характерному профилю термограмм ДСК можно проверить не только аутентичность образца масла, но даже географическое происхождение и сорт масличного растения, из которого оно выделено.

ТАГ масла РП содержат в сумме от 75 до 90 % ненасыщенных ЖК: в основном линолевой и олеиновой, 5–20 % насыщенных ЖК (пальмитиновой,

стеариновой, арахидиновой и бегеновой) и некоторое количество (в сумме до 5 %) минорных ненасыщенных и насыщенных ЖК (табл. 5.1) [184-187].

Таблица 5.1. Состав жирных кислот жирного масла РП

ЖК	W, %
Пальмитиновая (C16:0)	8-11
Стеариновая (C18:0)	3-11
Олеиновая (C18:1)	21-33
Линолевая (C18:2)	35-57
Леноленовая (C18:3)	0-6
Арахидиновая (C20:0)	0-7
Эйкозеновая (C20:1)	0-2
Бегеновая (C22:0)	0-4

По данным работ [181,184-187] и цитируемых в них первоисточников был проведен корреляционный анализ, найдены значимые корреляции между соотношениями некоторых ЖК, обусловленные влиянием генотипических и фенотипических факторов. Так, при увеличении в масле РП доли пальмитиновой кислоты (C16:0), доля линолевой (C18:2) асимбатно падает:  $W(C18:2) = 104 - 7W(C16:0)$ ,  $R=0.59$ ,  $n=15$ . Доля стеариновой кислоты при этом симбатно растет:  $W(C18:0) = 1.7W(C16:0) - 9.0$ ,  $R=0.62$ ,  $n=15$ . Аналогично доля арахидиновой кислоты симбатно растет при увеличении доли стеариновой кислоты:  $W(C20:0) = 0.7 \times W(C18:0) - 1.4$ ,  $R=0.82$ . Иначе говоря, при симбатном увеличении доли насыщенных ЖК в масле РП в первую очередь падает содержание основной ненасыщенной кислоты – линолевой (C18:2). В работе [181] показано, что между положением эндотермических максимумов кривых ДСК плавления, их площадью и содержанием основных ЖК в растительных маслах прослеживаются значимые корреляции. Таким образом, выявленные тренды должны закономерно отразиться на теплофизических свойствах жировой фазы РП, выращенной в разных условиях, так как фазовые переходы ТАГ с разным соотношением насыщенных и ненасыщенных ЖК проявляются при разных температурах [184].

ЖК, характерные для жирного масла РП образуют около 20 разнообразных ТАГ (без учета положения остатков ЖК в структуре молекулы), которые в химической технологии жиров группируют на 4 фракции по степени ненасыщенности: UUU, UUS, USS, и SSS. Плоды РП, культивируемой в Липецкой области, например, содержат в жирном масле около 60 % ТАГ типа UUU и только 3 % SSS (табл. 5.2) [184].

Таблица 5.2. Состав ТАГ образца РП, культивируемого в Липецкой области, %

Фракция ТАГ	Содержание фракции, %	ТАГ	Содержание ТАГ, %
UUU	59.1	L <sub>3</sub>	15.6
		L <sub>2</sub> O	20.5
		O <sub>3</sub>	8.1
		LO <sub>2</sub>	11.6
		L <sub>2</sub> E	1.6
		O <sub>2</sub> E	1.7
		UUS	33.9
L <sub>2</sub> S	7.1		
LOP	6.7		
LOS	5.8		
O <sub>2</sub> P	1.7		
O <sub>2</sub> S	2.0		
LOB	2.2		
USS	4.2	S <sub>2</sub> O	0.9
		LPB	0.6
		LP <sub>2</sub>	1.8
		OPS	0.9
SSS	2.8	P <sub>3</sub>	1.6
		PS <sub>2</sub>	1.2

ТАГ, образованные преимущественно ненасыщенными ЖК (UUU, UUS), как отмечено выше, имеют отрицательные температуры плавления, SSS – положительные [181]. В результате взаимной растворимости ТАГ, из-за наличия эвтектик, различных фазовых переходов, кривые ДСК плавления жиров (смесей ТАГ) имеют несколько максимумов и экстремумов, уникальных для различных жиров.

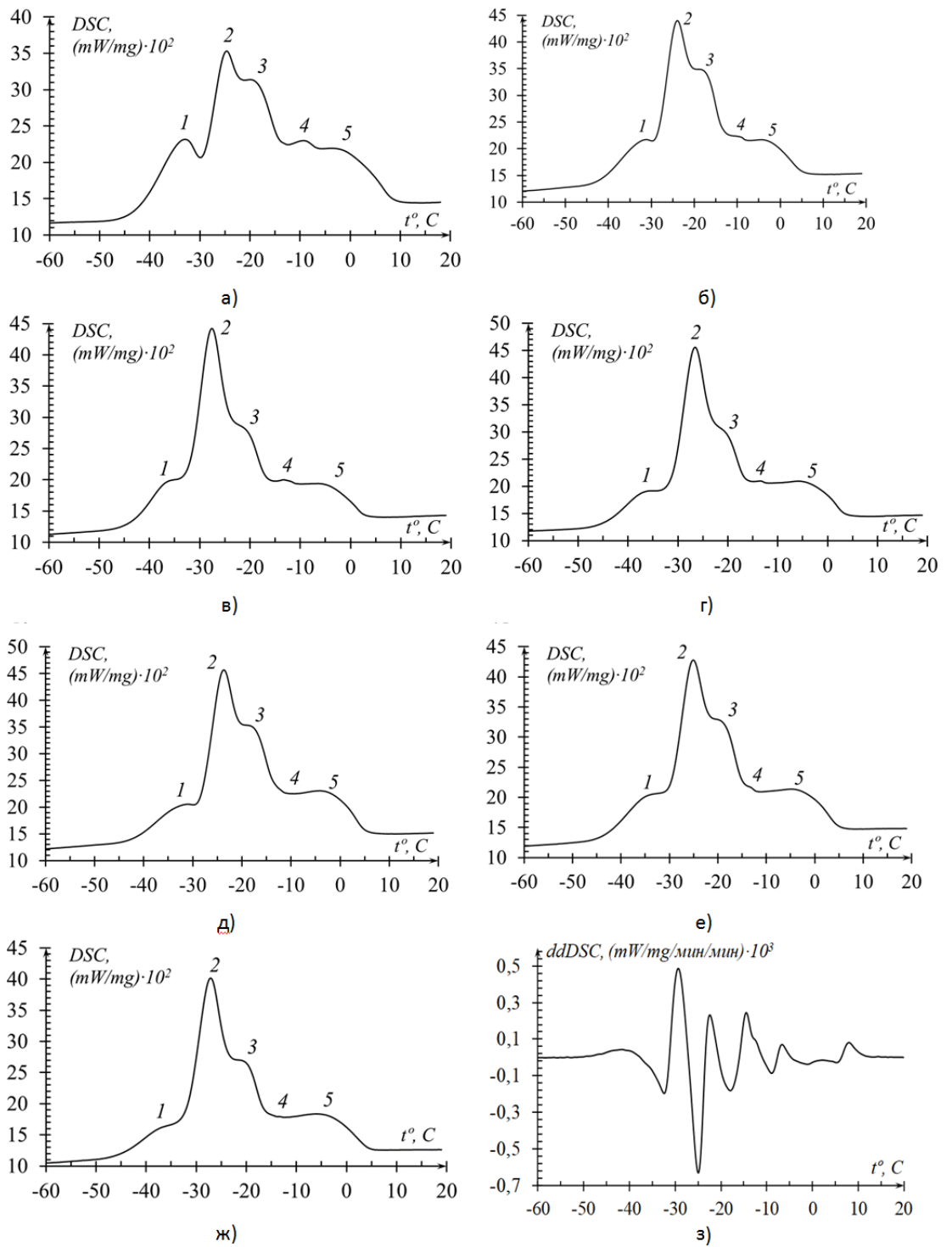


Рис. 5.1. ДСК профили плавления масел рапсоропши пятнистой: а) Кулинский район; б) Левашинский район; в) Сулейман Стальский район; г) Кайтагский район; д) Магараметский район; е) смесь со всех районов Дагестана; ж) Фирма «Биокор», г. Пенза; з) 2-я производная ДСК, Кулинский район [196]

Для кривых плавления масла РП можно выделить 5 характерных эндотермических максимумов (рис. 5.1), которые характеризуют свойства не индивидуальных ТАГ, а интегральные характеристики их фракций, имеющих близкие теплофизические свойства. В табл. 5.3 приведены данные о происхождении образцов масла РП.

Таблица 5.3. Характеристика условий произрастания дикорастущей РП в Дагестане [188]

Характеристика	Район (населенный пункт)				
	Кайтагский (Маджалис)	Магарамкентский (Куйсун)	Сулейман Стальский (с. Гереханово)	Левашинский (Кутиша)	Кулинский (Хосрех)
Высота, м над уровнем моря ( $H$ )	408	532	480	1593	2150
Тип почвы	Аллювиально-луговой	Бурый-лесной	Горно-луговой	Горно-каштановый	Горно-луговой
Содержание гумуса в почве ( $G$ )	3.6-6.0	3.6-6.0	4-5	5-8	5-8
Средняя годовая температура, °С в 2019 г.	11.5	14.6	15.3	13.0	11.6
Амплитуда температуры в 2019 г., °С	36	46	45	41	37
Сумма осадков в 2019 г., мм ( $D$ )	460	258	278	448	671
Количество солнечных дней в 2019 г. ( $Q$ )	157	101	107	116	113

Для определения температуры  $T_i$  максимумов слабо выраженных термических эффектов, так называемых “плеч” на основных пиках, применяли вторые производные от ДСК по времени (рис. 5.1з). В табл. 5.4 приведены установленные величины теплофизических характеристик исследуемых образцов –  $T_i$  и площади  $S_i$ , найденные в результате компьютерного разделения накладывающихся пиков. В работе [181] показано, что жидкие РМ,

содержащие в своем составе >60% UUU и >17% UUS, например, оливковое, имеют на кривых плавления ДСК наиболее ярко выраженный эндотермический пик в области от  $-42$  до  $+6^{\circ}\text{C}$ , на плечах которого слева и справа проявляются как минимум еще два-три пика. Основные тепловые эффекты в исследуемых нами образцах масла РП наблюдались в более узком диапазоне температур.

*Максимум при  $T_1$ .* Как видно из табл. 5.4, максимум пика при  $T_1$  слабо варьирует от  $-37.6$  до  $-31.1^{\circ}\text{C}$ , этот пик можно отнести, прежде всего, к фракции ТАГ UUU с наименьшими температурами плавления, в частности, он формируется за счет наличия  $L_3$ .

*Максимум при  $T_2$ .* Второй пик с максимумом при  $T_2$  от  $-27.6$  до  $-23.8^{\circ}\text{C}$  имеет наибольшую площадь. Его формирует смесь фракций ТАГ UUU и UUS, в которых присутствуют остатки линолевой кислоты –  $L_3$ ,  $L_2O$ , LOP, при этом возрастание доли ТАГ типа LOP, LOS, как показано в [181], приводит к смещению максимума пика в область более высоких температур за счет включения в состав ТАГ остатков пальмитиновой, стеариновой и других насыщенных ЖК.

*Максимум при  $T_3$*  смещается от  $-19.9$  до  $-14.4^{\circ}\text{C}$ , он формируется смесью, содержащей преимущественно ТАГ UUS, с примесью UUU и USS. Увеличение доли олеиновой, пальмитиновой и стеариновой кислот и суммы USS смещает максимум пика в область более высоких температур [181].

*Максимум при  $T_4$ .* Этот нечеткий пик скорее всего образуют ТАГ из фракция USS.

*Максимум при  $T_5$*  от  $-4.7$  до  $-1.2^{\circ}\text{C}$  обусловлен наличием смеси ТАГ типа USS и SSS. Этот пик находится в области отрицательных температур, а значит из-за небольшого количества ТАГ SSS, содержащих пальмитиновую, стеариновую, арахидиновую и бегеновую кислоты, на термограммах исследуемых масел РП отсутствует пик, характеризующий «чистую» фракцию SSS.

В табл. 5.5 представлены результаты корреляционного анализа выборки образцов масла, полученного из РП дикорастущей в разных районах Дагестана, которые отличаются климатическими условиями (табл. 5.3) [188]. Изучение дикорастущей РП одного региона позволяет исключить генотипические различия и оценить, как на кривые ДСК влияют фенотипические факторы. Как видно из данных табл. 5.5, для образцов масла РП характерны не только значимые (абсолютное значение коэффициента парной корреляции  $|R| > 0.50$ ), но и тесные корреляции ( $|R| \geq 0.80$ ) как между температурами максимумов пиков  $T_i$ , или между  $S_i$  так и между ними и отдельными климатическими условиями – высотой над уровнем моря ( $H$ ), средним содержанием гумуса в почве ( $G$ ), количеством солнечных дней ( $Q$ ) и осадков ( $D$ ) в году. Так, с повышением высоты над уровнем моря все  $T_i$  смещаются в сторону повышения, что говорит о снижении степени ненасыщенности ТАГ в этом сырье. Об этом же говорят асимбатные корреляции между  $T_i$  и йодным числом  $NI$ . Чем сильнее наблюдаемое смещение  $T_i$  в сторону положительных температур на кривых ДСК, тем меньше йодное число образца масла. Аналогичная тенденция для  $T_i$  наблюдается с увеличением содержания гумуса в почве. Вместе с тем площади этих пиков  $S_i$  ведут себя по-разному. Так, площадь пика  $S_2$  уменьшается, при этом площади  $S_3$  и  $S_5$  растут, при смещении  $T_i$  в более положительную область, что указывает на увеличение доли ТАГ с меньшим количеством двойных связей. Величины  $T_4$  и  $T_5$ , обусловленные ТАГ USS и SSS, симбатно растут в масле при увеличении осадков. В то же время, чем больше солнечных дней в зоне произрастания РП, тем более низкие значения  $T_1$  и  $T_5$  наблюдаются на кривых плавления, что указывает на увеличение степени ненасыщенности ТАГ, при этом заметно увеличивается площадь пика  $S_3$ , а значит растет содержание в масле ТАГ типа UUU и UUS. Всего установлено 46 корреляций: (1) - (46). Таким образом, проверка образцов масла РП дикорастущей в Дагестане по корреляциям (1) – (46) позволяет установить условия созревания

данного растительного сырья и с большой долей вероятности место произрастания.

Таблица 5.4. Значения температур максимумов эндотермических пиков  $T_i$ , их площадей  $S_i$  и йодного числа  $NI$  для образцов масла РП

Происхождение образца масла РП	$T_1$	$T_2$	$T_3$	$T_4$	$T_5$	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$	$S_5$	$NI$
Кулинский район, Дагестан	-32.4	-25.0	-18.3	-8.9	-1.2	23.3	15.8	29.7	15.6	15.6	112
Левашинский район, Дагестан	-31.5	-24.1	-16.4	-9.3	-3.0	20.6	26	33.0	5.3	15.1	110
Сулейман Стальский район, Дагестан	-37.0	-27.6	-19.9	-13.1	-4.4	18.6	34.3	23.8	12.2	11.1	116
Кайтагский район, Дагестан	-37.2	-26.7	-19.6	-13.5	-4.7	16.7	36.3	16.1	21.8	9.1	113
Магараметский район, Дагестан	-31.1	-23.8	-16.6	-12.1	-2.6	15.3	29.4	26.3	20.5	8.5	108
Смесь образцов со всех районов Дагестана	-35.3	-25.2	-18.2	-13.1	-3.6	19.4	30.2	23.1	19.1	8.1	111
ООО Фирма «Биокор», г. Пенза	-37.6	-27.1	-19.3	-13.2	-3.6	18.2	33.9	21.4	18.2	8.3	109

Анализ серии образцов подлинного масла дикорастущей РП позволил экспериментально установить диапазоны варьирования его теплофизических параметров ( $T_i$ ,  $S_i$ ). Продемонстрируем возможности метода ДСК в контроле подлинности масла РП, сравнивая данные для дагестанских дикоросов с образцом масла, выделенного нами из плодов РП, приобретённых в аптечной сети, производитель – фирма «Биокор» (табл. 5.4) и двумя пробами масла РП, приобретенного в торговой сети «ВкусВилл», в которые специально добавили по 10% подсолнечного и кукурузного масел, как и в работе [187]. Для

визуализации и анализа данных построили КК с нормализованными параметрами  $T_i$  и  $S_i$  в виде лепестковых диаграмм (рис. 5.2), на которых выделили установленный коридор допустимых значений от 0 до 1 (сплошные линии) и данные контроля (линии штрихом).

$$X_n = (X - X_{\text{мин}})/(X_{\text{макс}} - X_{\text{мин}}),$$

где  $X_n$  - найденное нормализованное значение  $T_i$  или  $S_i$ ,  $X_{\text{макс}}$  и  $X_{\text{мин}}$  – максимальное и минимальное значение этих параметров в выборке из табл. 5.4 для дагестанских дикоросов РП.

Масло РП из сырья фирмы «Биокор» только по одному показателю ( $T_1$ ) незначительно выходило за допустимый коридор, характерный для выборки из дагестанского региона, он близок по теплофизическим характеристикам масла, полученного из РП Сулейман Стальского района. Как видно из рис. 5.2, в масле РП с добавкой подсолнечного масла в коридор допустимых значений от 0 до 1 не попадают по температуре в максимуме пика значения  $T_1, T_2, T_3$  и  $T_5$ , ниже нормы площадь  $S_5$ , это означает, что в образце завышена по сравнению с маслом РП доля ТАГ UUU и UUS, занижена доля SSS.

В образце с добавкой кукурузного масла занижено значение  $T_1$ , заметно завышена площадь  $S_3$  и занижена площадь  $S_5$ . Это указывает на изменение состава UUU, в частности, на увеличение доли  $L_3[187]$ , а также UUS, и на снижение доли SSS в искусственно приготовленных фальсификатах. Построение КК в виде нормализованных лепестковых диаграмм в оболочке MS Excel и внесение в них экспериментальных данных – удобный алгоритм идентификации подлинности растительных масел по данным ДСК.

Таким образом, получена и охарактеризована выборка данных по теплофизическим показателям масла РП дикорастущей в различных районах Дагестана с применением метода ДСК, установлен диапазон варьирования этих показателей, показан алгоритм установления подлинности масла РП по данным термического анализа.

Выполненные исследования подтверждают тот факт, что фазовые переходы растительного масла взаимосвязаны с определенным фракционным

составом ТАГ, который варьирует при изменении фенотипических факторов в довольно широких диапазонах, но не случайным образом, а в соответствии с генотипом и природными закономерностями созревания растительного сырья.

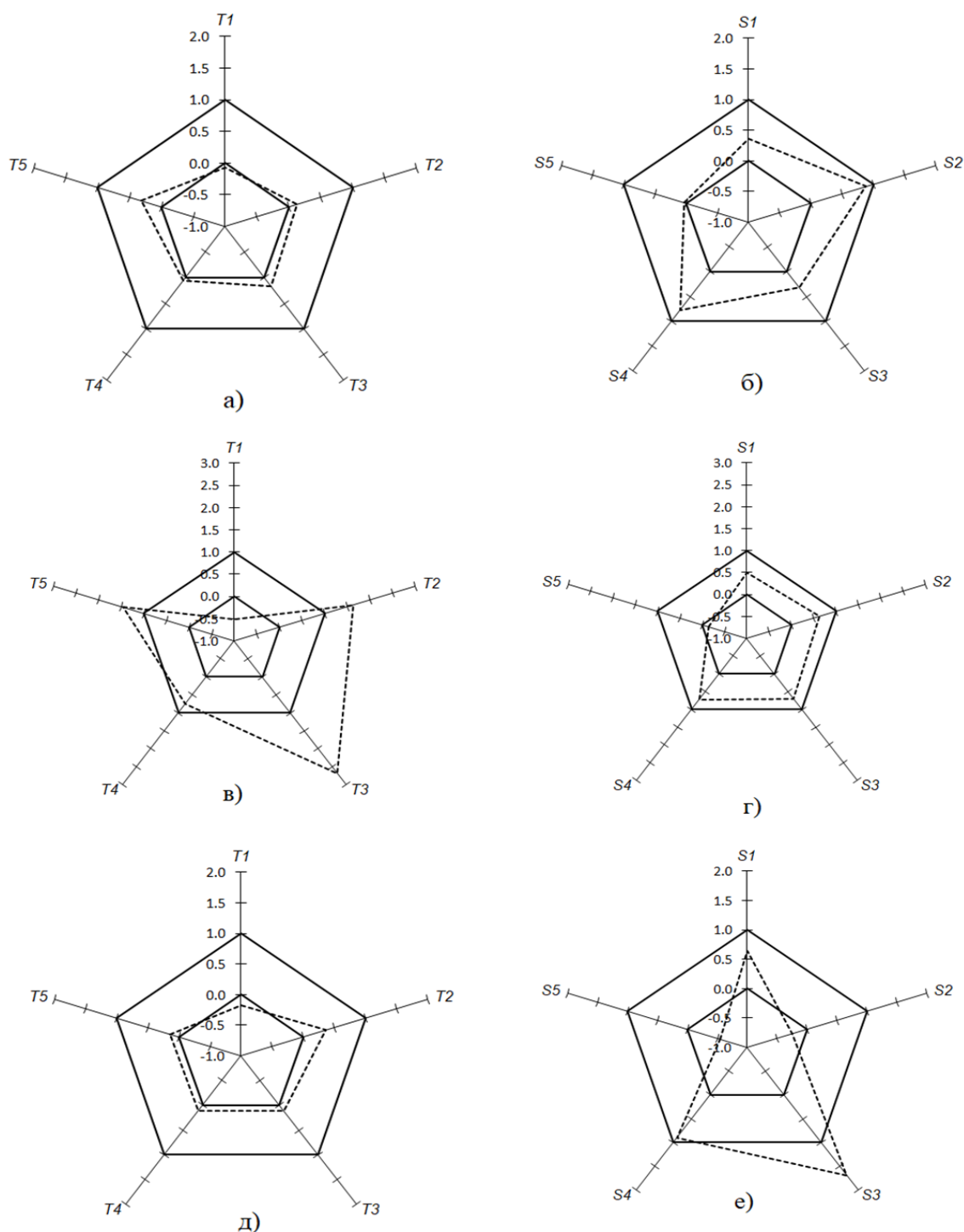


Рис. 5.2. Контрольные карты для масла расторопши пятнистой: нормализованные значения  $T_i$  и  $S_i$ : (а) и (б) для образца фирмы «Биокор»; (в) и (г) для образца торговой сети «ВкусВилл» с добавкой подсолнечного масла (9:1); (д) и (е) для образца «ВкусВилл» с добавкой кукурузного масла (9:1)

Таблица 5.5. Значимые линейные корреляции между максимумами температуры, площадями эндотермических пиков ( $T_i$ ,  $S_i$ ) кривых ДСК плавления масла дикорастущей РП при варьировании условий произрастания, Дагестан:  $Y = aX + b$  ( $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ),  $H$  – высота над уровнем моря;  $G$  – среднее содержание гумуса в почве, %;  $Q$  – количество солнечных дней в году,  $D$  – сумма осадков в году,  $NI$  – йодное число

$X/Y$	$Y = aX + b$	$R$	$X/Y$	$Y = aX + b$	$R$
$T_1/T_2$	$Y = 0.5X - 8.4$ (1)	0.93	$T_3/H$	$Y = 450X + 2580$ (24)	0.74
$T_1/T_3$	$Y = 0.5X - 1.6$ (2)	0.92	$T_3/NI$	$Y = 108.1 - 1.1X$ (25)	-0.51
$T_1/T_4$	$Y = 0.6X + 7.2$ (3)	0.75	$T_3/G$	$Y = 0.5X + 7.0$ (26)	0.71
$T_1/T_5$	$Y = 0.4X + 9.6$ (4)	0.81	$S_1/S_2$	$Y = 68.6 - 2.1X$ (27)	-0.78
$T_1/H$	$Y = 170X + 6770$ (5)	0.58	$S_1/S_3$	$Y = 1.2X + 1.2$ (28)	0.59
$T_1/G$	$Y = 0.2X + 12.0$ (6)	0.60	$S_1/S_4$	$Y = 38.3 - 1.2X$ (29)	-0.54
$T_1/Q$	$Y = 19.6 - 4.1X$ (7)	-0.57	$S_1/S_5$	$Y = 1.0X - 8.0$ (30)	0.80
$T_1/NI$	$Y = 84.2 - 0.8X$ (8)	-0.81	$S_2/S_3$	$Y = 42.7 - 0.6X$ (31)	-0.76
$T_2/T_3$	$Y = 1.0X + 5.9$ (9)	0.96	$S_2/S_5$	$Y = 21.4 - 0.4X$ (32)	-0.77
$T_2/T_4$	$Y = 0.8X + 8.6$ (10)	0.58	$S_2/H$	$Y = 5814 - 94X$ (33)	-0.88
$T_2/T_5$	$Y = 0.6X + 11.9$ (11)	0.69	$S_2/G$	$Y = 8.3 - 0.1X$ (34)	-0.84
$T_2/H$	$Y = 270X + 7910$ (12)	0.51	$S_2/D$	$Y = 845 - 15X$ (35)	-0.72
$T_2/G$	$Y = 0.3X + 13.9$ (13)	0.56	$S_3/S_4$	$Y = 35.2 - 0.8X$ (36)	-0.75
$T_2/NI$	$Y = 67.0 - 1.8X$ (14)	-0.95	$S_3/S_5$	$Y = 0.4X - 0.3$ (37)	0.76
$T_3/T_4$	$Y = 0.8X + 2.5$ (15)	0.56	$S_3/H$	$Y = 106X - 1578$ (38)	0.79
$T_3/T_5$	$Y = 0.5X + 5.7$ (16)	0.56	$S_3/G$	$Y = 0.1X + 2.5$ (39)	0.75
$T_3/G$	$Y = 0.3X + 11.0$ (17)	0.51	$S_3/Q$	$Y = 2.3X + 177.8$ (40)	0.67
$T_3/NI$	$Y = 80.7 - 1.7X$ (18)	-0.91	$S_4/S_5$	$Y = 17.6 - 0.4X$ (41)	-0.75
$T_4/T_5$	$Y = 0.5X + 2.8$ (19)	0.82	$S_4/H$	$Y = 2277 - 74X$ (42)	-0.59
$T_4/H$	$Y = 354X + 5240$ (20)	0.92	$S_4/G$	$Y = 6.6 - 0.1X$ (43)	-0.54
$T_4/D$	$Y = 46X + 960$ (21)	0.63	$S_5/H$	$Y = 199X - 1122$ (44)	0.85
$T_5/D$	$Y = 60X + 630$ (22)	0.54	$S_5/G$	$Y = 0.2X + 3.0$ (45)	0.81
$T_5/Q$	$Y = 93 - 8X$ (23)	-0.52	$S_5/D$	$Y = 28X + 105$ (46)	0.63

## 5.2. Дифференциальная сканирующая калориметрия коровьего молочного жира

Остановимся на теплофизических свойствах исследуемых образцов молочного жира. Коль жирнокислотный и триглицеридный состав молочного жира вариативен, зависит от генотипических и фенотипических факторов, а профиль термограмм ДСК чувствителен к химическому составу молочного жира, представилось интересным найти различия в теплофизических

свойствах молочного жира в зависимости от породы коров. Полиморфное поведение молочного жира, конечно, намного усложняет интерпретацию термограмм для молочного жира, чем термограмм растительных масел, более бедных по разнообразию ЖК и ТАГ. Кривые ДСК образцов представлены на рис. 5.3. В табл. 5.6 приведены количественные параметры термограмм. На рис. 5.3 отмечены характеризующие процесс плавления, такие параметры как температура первого пика -  $t_1$ ; температура впадины -  $t_1'$ , температура второго пика -  $t_2$ . температура третьего пика -  $t_3$  и площадь под кривой  $S$ , которая характеризует общую теплоемкость жира.

Отношение температур  $t_2/t_3$  наиболее чувствительно реагирует на замену молочного жира посторонними жировыми продуктами и в целом на соотношение ТАГ [71,190,193, 204]. Все кривые ДСК имеют три типичных эндотермических пика, характерного для молочного жира. Данные пики имеют сложный геометрический профиль, поскольку они образованы в результате фазовых (полиморфных) переходов различных групп ТАГ. Первый экзотермический пик образован группой ТАГ с низкой температурой плавления (Low melting point, LMP). Второй экзотермический пик образован более многочисленной группой ТГ со средней температурой плавления (Medium melting point, MMP). Третий экзотермический пик образован группой ТАГ с высокой температурой плавления (High melting point, HMP). Границей между LMP и MMP служит впадина при  $t_1'$ , граница между MMP и HMP размыта и может быть определена только приблизительно. Группы ТАГ – LMP, MMP и HMP, не только плавятся отдельно, но и ведут себя как твердые растворы. Эндотерма LMP соответствует плавлению ТАГ с высоким содержанием длинноцепочечных ненасыщенных жирных кислот и насыщенных жирных кислот с короткой цепью, UUS, таких как ВОО, ВРО и РРО (В – масляная кислота С4:0; О – олеиновая кислота, С18:1; Р – пальмитиновая кислота, С16:0). Фракция LMP является жидкой при комнатной температуре. Основные триглицериды, плавящиеся во фракции MMP, содержат одну короткую насыщенную цепь или одну ненасыщенную

USS и SSS, такие как ВРР и РРО. Фракция НМР богата ЖК с длинными насыщенными цепями, такие как РРР. Интересно отметить, что было обнаружено, что триглицерид РРО плавится под тремя эндотермами. Плавление триглицеридов фракции ММР наиболее важно для сенсорных свойств молочного жира во рту [71,193].

Таким образом, у всех образцов молочного жира наблюдаются группы пиков LMP, ММР и НМР, однако у образца молочного жира голштинской породы впадина при  $t_1'$  практически не наблюдается так как пики при  $t_1$  и  $t_2$  расположены ближе друг к другу, чем в других образцах. Это различие обусловлено скорее всего породой и рационом питания животного.

На кривых ДСК образцов 1 и 2 у самого основания второго эндотермического пика явно проявляется плечо (подпик), которое на кривой красно-пестрой коровы имеет гораздо более яркий характер. При этом у образцов джерсейской и черно-пестрой коровы данный пик существенно сглаживается в небольшой перегиб. Третий пик ДСК на всех кривых имеет разный характер, так в образцах 1 и 2 при переходе от второго пика до самого окончания плавления наблюдается плавные спуски, в случае третьего образца – имеется плато, а в случае 4-го образца имеется даже максимум пика 3. Однако температура максимума 3 пика имеет четкие тренды в зависимости от содержания всех фракций ТАГ (табл. 5.7).

Таблица 5.6. Параметры плавления образцов молочного жира

№	$t_2$ , °C	$t_3$ , °C	$t_2/t_1'$	S, Дж/г
1	12.3	16.7	1.36	88.7
2	10.1	16.2	1.60	94.4
3	9.6	16.4	1.71	93.2
4	8.6	18.0	2.09	93.2

Примечание: 1 – красно-пестрая порода; 2 – голштинская порода; 4 – джерсейская порода

Обращает на себе внимание, что с увеличением концентрации С50-С54 и С38-С40 температура  $t_3$  растет, а с увеличением содержания С42-С48 и

увеличением содержания С24-С36 падает (степень детерминации  $R^2 \approx 0.94$ ), таким образом, этот пик можно отнести к суперпозиции ТАГ с длинными насыщенными цепями USS и SSS, такими как PPP, PPO, а так же ТАГ, содержащими кроме С16:0 еще С18:0 или С20:0.

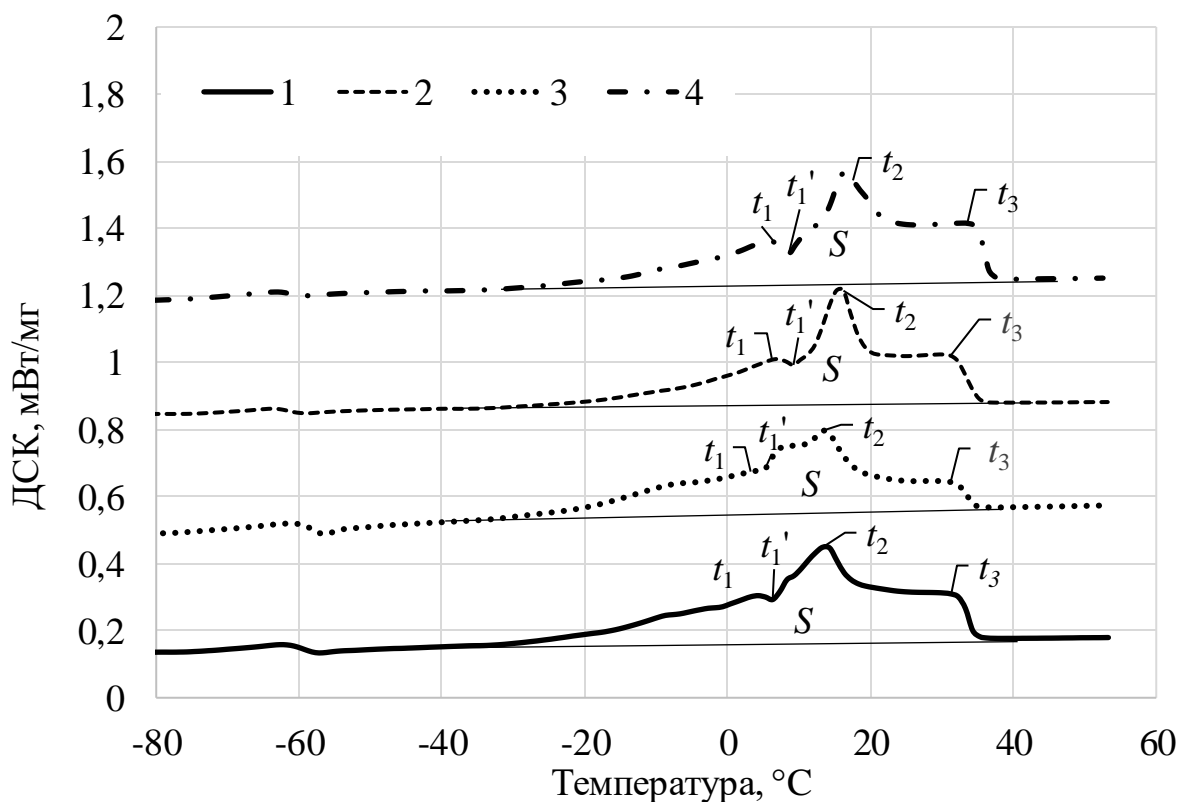


Рис. 5.3. Кривые ДСК образцов молочного жир различных пород коров: 1 – красно-пёстрая; 2 – голштинская; 3 – черно-пестрая, 4 – джерсейская

Другие параметры термограмм не показали тесных трендов. Таким образом, джерсейская порода наиболее сильно отличается от других пониженным значением  $t_2$  и максимальным значением  $t_3$ , что согласуется с составом ЖК и ТАГ. В монографии [68] также отмечается, что молочный жир джерсейской породы имеет более высокое содержание летучих ЖК, чем, например, голштинской. Обнаружены тренды между количеством триглицеридов и отдельными теплофизическими параметрами, измеренными методом ДСК. Найденные тренды могут служить критериями натуральности молочного жира и отнесения образца молочного жира к определенной породе коров. Нарушение выявленных трендов может указывать на внесение в

продукт жиров-заменителей, фракционирование, переэтерификацию или иное физико-химического воздействие на образец масложирового сырья.

Таблица 5.7. Тренды значений  $t_3$  от содержания отдельных фракций ТАГ

Содержание фракции ТАГ ( $x$ )	$t_3$ ( $y$ )
C54	$y=11.6x-13.8$
C52	$y=1.7x+3.4$
C50	$y=2.8x-11.1$
C48	$y=50-3.9x$
C46	$y=76.8-7.9x$
C44	$y=84-9.5x$
C42	$y=144.2-17.4x$
C40	$y=4.9x-30.4$
C38	$y=3.8x-32.1$
C36	$y=75-4.8x$
C34	$y=38.5-3.1x$
C32	$y=34.6-5.5x$
C30	$y=29.2-7.7x$
C28	$y=26.4-9.6x$
C26	$y=26.5-10.1x$
C24	$y=20.4-7.2 x$

Таким образом, показано, что данные ГЖХ о составе ТАГ в комплексе с данными ДСК служат уверенной идентификации подлинности молочного жира, в отдельных случаях можно отличить МЖ коров одной породы от МЖ другой [68, 71, 190, 193]. Вместе с тем ДСК может быть самостоятельным альтернативным способом в контроле триглицеридного состава жиров.

## **Глава 6. Применение цифровой цветометрии в контроле качества пищевой продукции**

### **6.1. Цифровая цветометрия как альтернатива спектрофотометрии.**

В литературном обзоре (глава 1) показано, что для задач ЦЦМ стали активно использоваться смартфоны, которые оснащены цифровыми камерами, имеющими параметры, близкие к цифровым фотокамерам [83-91]. Смартфоны как радиотехнические устройства совмещают в себе функции приема и передачи информации с помощью электронной почты, мессенджеров, цифрового фотоаппарата, многозадачного мини-компьютера для памяти или возможности хранить и перерабатывать информацию, используя облачные технологии. ЦЦМ может быть вспомогательным экспрессным методом, в помощь ГЖХ и ВЭЖХ, а также неотъемлемой частью анализа методом ТСХ (характеризация пятен по цвету и размерам).

В настоящей работе изучена возможность ЦЦМ с применением смартфонов во внелабораторном контроле цветных чисел растительных масел. Использована цветовая система RGB [84-87,200,201]. Зависимости интенсивности индивидуальных компонент цветности  $F_i$  от цветного числа ( $Z$ ) в йодной шкале носят нелинейный характер, что было установлено еще в работе [92]. При этом интенсивность компонент цветности  $F_R$  и  $F_G$  в диапазоне  $Z=1-30$  меняется сравнительно слабо от 186 до 175 для  $F_R$  и от 185 до 157 для  $F_G$ . В тоже время интенсивность голубой компоненты  $F_B$  резко падает от 185 до 0. Для нивелирования этого эффекта в качестве аналитического сигнала использовали не отдельные компоненты цветности, а их суммы  $\Sigma F_i$ , которые также изменялись не линейно. Для их линеаризации использовали полулогарифмические анаморфозы. Еще одна проблема при использовании ЦЦМ, особенно для внелабораторных условий, это сложность обеспечения одинаковых условий освещенности при регистрации образцов. Для ее решения в нашем исследовании использовали фотографирование при искусственном свете в 300 люкс, и, самое главное, наряду с анализируемыми пробами в этих

же условиях регистрировали параметры цветности градуировочных растворов и образца сравнения – практически бесцветного вазелинового масла медицинского (ГОСТ 3164-78). Т.е., для градуировки использовали относительные значения сумм компонент цветности пробы и образца сравнения  $\Sigma F_i / \Sigma F'_i$ . В табл. 6.1 представлены относительные суммы усредненных значений интенсивности компонент RGB для разных растворов йодной шкалы, на рис. 6.1 – градуировочный график и линейное уравнение с высокой степенью детерминации для определения цветного числа РМ методом ЦЦМ, а на рис. 6.2 – методом спектрофотометрии (СФ) с аналитической волной 450 нм.

Таблица 6.1. Градуировочные данные по йодной шкале

Цветное число, Z	$\Sigma F_i / \Sigma F'_i$
1	1.000
5	0.777
10	0.745
15	0.657
20	0.638
25	0.596
30	0.607

В табл. 6.2 приведены результаты определения интенсивностей  $F_i$  и цветных чисел Z, полученных 3 способами. Из них можно сделать вывод, что способом ЦЦМ можно более точно определить значения Z, чем визуальным способом. Таким образом, количественно охарактеризованы по йодной шкале 5 образцов РМ, применяемых в качестве БАД. Сравнение коэффициентов детерминации  $R^2$  методики ЦЦМ и СФ, показывает, что спектрофотометрическая методика более точно регистрирует цветные числа, чем ЦЦМ, однако последняя пригодна для регистрации Z в более широком диапазоне, чем спектрофотометрический способ. Для нее можно использовать даже малобюджетные смартфоны, например, типа Realme C11 2021, его стоимость составляет меньше 10 тыс. рублей, в то время как бюджетные

спектрофотометры стоят от 75 до 250 тыс. рублей. Показана возможность применения смартфонов для контроля цветных чисел растительных масел во внелабораторных условиях.

Таблица 6.2. Параметры цветности РМ и найденные числа Z

Масло	$F_R/F'_R$	$F_G/F'_G$	$F_B/F'_B$	$\Sigma F_i/\Sigma F'_i$	Z, ЦЦМ	Z, визуальн о	Z, СФ
Репейное с добавкой кастрового	0.94	0.95	0.88	0.92	1.8	2-3	2.1
Абрикосово й косточки	0.95	0.96	0.90	0.93	1.7	2-3	1.9
Расторопши	0.89	0.94	0.44	0.76	7.1	5-10	7.5
Касторовое	0.97	0.98	0.91	0.95	1.4	2	1.7
Облепихово е	0.99	0.45	0.01	0.48	70.8	>30	>30
Вазелиновое (образец сравнения), R,G,B	182	181	186	549	1	1	1.1

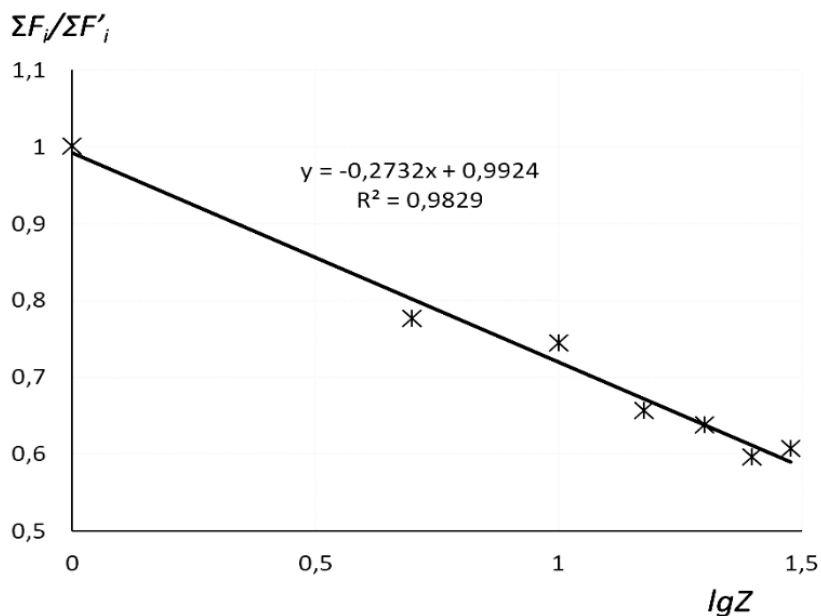


Рис. 6.1. Градуировочный график для определения цветности РМ

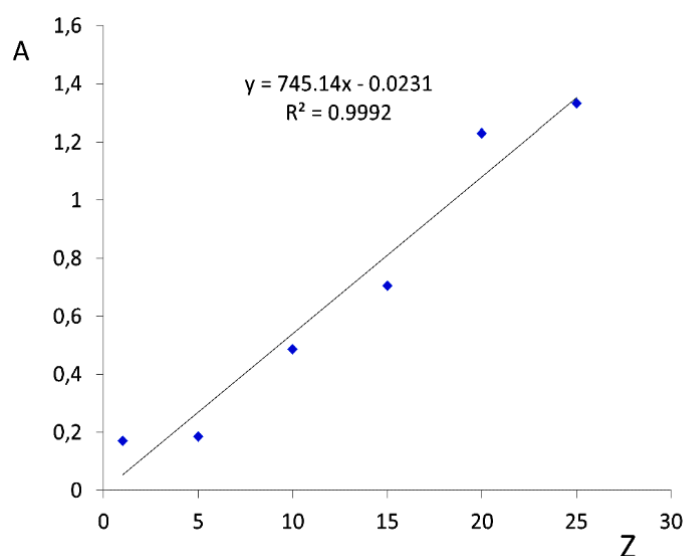


Рис. 6.2 Градуировочный график для йодной шкалы (СФ, 450 нм)

Другой пример использования смартфона для определения субстанции в лекарственном препарате по измерению суммарной интенсивности флуоресценции [91]. Фолиевая кислота применяется как биологически активная добавка к пище [6]. Для исследования фолиевой кислоты была использована ее способность образовывать продукты взаимодействия, обладающие флуоресценцией. Для приготовления стандартных растворов использовали аптечный препарат «Фолиевая кислота» с содержанием в 1 таблетке 1 мг фолиевой кислоты. Навеску препарата фолиевой кислоты растворяли в 5.0 см<sup>3</sup> 0.1М раствора гидроксида натрия, приливали 5.0 см<sup>3</sup> 0.1 М раствора соляной кислоты и 1.0 см<sup>3</sup> 0.05 н раствора перманганата калия. Раствор помещали на водяную баню с температурой 80–85 °С на 3 мин. В результате окисления перманганатом калия образуются птериновая (2-амино4-гидрокси-птеридин-6-карбоновокислоты) и пара-аминобензоилглутаминовая кислоты.

Полученный фильтрат, содержащий птериновую кислоту, имеет голубую флуоресценцию в ультрафиолетовом свете при длине волны 365 нм. Данная методика рекомендована фармакопейной статьей для проведения качественной реакции (установления подлинности препарата). При длине

волны 365 нм голубую флуоресценцию регистрировали с помощью смартфона SamsungGalaxyJ7 SM-J730FM с камерой 13Мп.

Таким образом, фармакопейная реакция с образованием флуоресцирующих продуктов, рекомендованная ранее только для идентификации, может успешно использоваться для количественных определений в широком диапазоне концентраций. А предложенный подход с использованием цифровых устройств (смартфонов) позволяет проводить анализ, не требуя специализированных приборов (таких, как флуориметр) и специальной подготовки персонала.

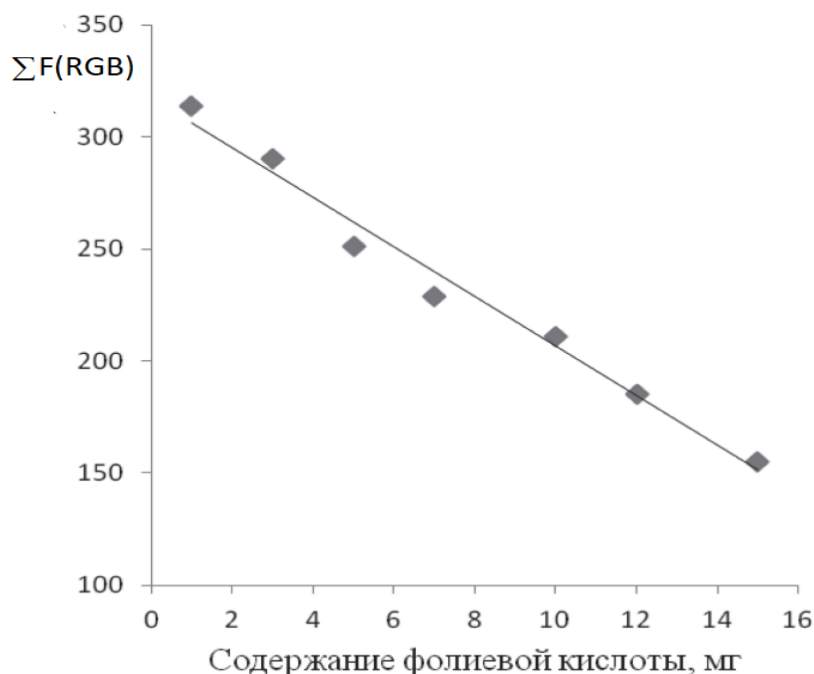


Рис. 6.3. Градуировочный график в методике ЦЦМ по определению фолиевой кислоты

Методика отличается низкой стоимостью единичного анализа, простотой исполнения, доступностью аппаратуры и программного обеспечения, имеет удовлетворительные метрологические характеристики (относительная погрешность определения не превышает 8%), пригодна для малобюджетных лабораторий.

## 6.2. Применение цифровой цветометрии в ТСХ бисфенола А

Наряду с методом ГХ-МС, требующим высокой квалификации оператора [199] и спектрофотометрическим методом [100] фенольные экотоксиканты в растворах можно определять методом ЦЦМ [201], причем фенолы различного строения при проявлении дают отличающиеся друг от друга интенсивности цветовых компонент в модели *RGB*. Было показано, что при проведении 2-х цветных реакций получают 6 аналитических сигналов – величины интенсивности ( $F_i$ ) цветовых координат  $R_1, G_1, B_1, R_2, G_2, B_2$ , где индекс 1 и 2 относятся к 1-й и 2-й цветной реакции. Эти сигналы объединили в виде лепестковых диаграмм (ЛД) в обобщенный показатель, который имеет для каждого фенола свои геометрические параметры, т.е. он имеет определенные признаки селективности при одном и том же наборе цветных реакций. Нам представилось интересным опробовать этот подход при совмещении ТСХ и ЦЦМ для определения БФА в спиртовых экстрактах с применением смартфона. Видеосигнал от проявленных пятен ТСХ в виде электронных изображений получали и обрабатывали с помощью смартфона SamsungGalaxyJ7 SM-J730FM с камерой 13Мп.

Тандем ТСХ и ЦЦМ позволяет получить 1 хроматографический ( $R_f$ ) и один обобщенный цветометрический (ЛД) показатели. Для проявления БФА на тонкослойных пластинах выбрали следующие цветные реакции: 1) обработка парами йода (желтые пятна); 2) обработка пульверизатором смесью хлорид железа (III) – феррицианид (синие пятна) [100, 205]. Определение проводили на тонкослойной пластине марки Sorbfil (Краснодар), силикагель с зернением 5-12 мкм, размер пластины 12,5×7 см. Пробу 5 мкл анализируемого раствора, наносили на линию старта с помощью микрошприца. Пластину помещают в стеклянную камеру с 30 см<sup>3</sup> подвижной фазы (хлороформ – этилацетат – уксусная кислота, 50:50:1). Кроме определения относительной скорости перемещения вещества на пластине ( $R_f$ ) для идентификации

хроматографических зон использовали результаты расчетов геометрических параметров ЛД.

Установлено, что метрологические характеристики методики ТСХ+ЦЦМ практически не уступают известным цветометрическим и тонкослойно-хроматографическим методикам: предел обнаружения изучения БФА составляет от 0,7 до  $1,5 \cdot 10^{-4}$  мг/л, относительная погрешность для диапазона  $5 \cdot 10^{-2}$  – 1,5 мг/л не превышала 10%, что соответствует нормативам для типичного тест-контроля.

Методику ТСХ бисфенола А, разработанную на модельных растворах, апробировали на реальных объектах, содержащих БФА. Методика ТСХ – ЦЦМ была использована для анализа эпоксидной смолы.

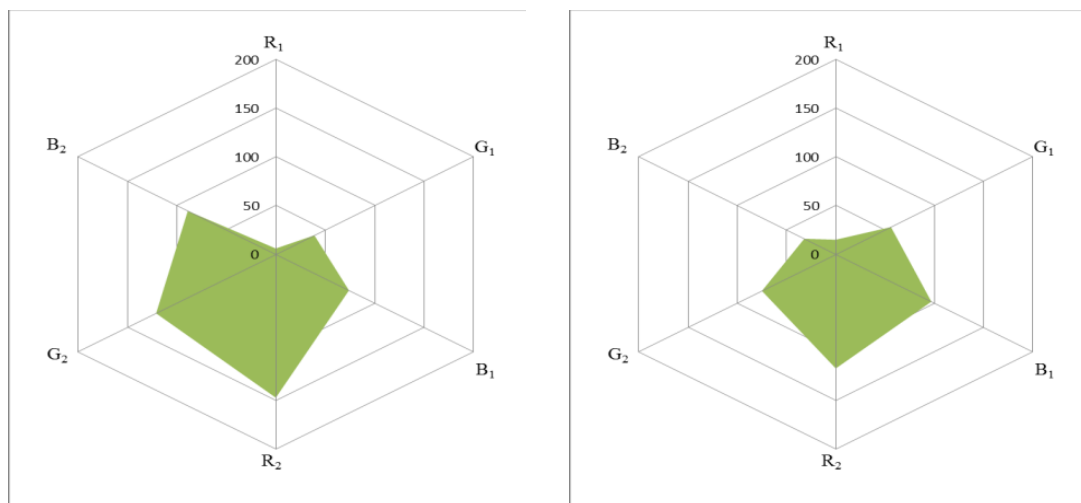
В качестве соединения для сравнения взяли фенол. Для извлечения БФА из смолы использовали смешанный растворитель – ацетонитрил- этилацетат (85:15), хорошо растворяющий БФА. Схема анализа представлена на рис. 6.4., результаты хроматографирования – в табл. 6.4. Полученные из цифровых изображений параметры цветности двух реакций в виде ЛД подвергали морфометрическому анализу по методике, предложенной в работе [100].



Рис. 6.4. Блок-схема анализа БФА в эпоксидной смоле ЭД-20

Таблица 6.4. Параметры удерживания фенола и БФА в системе хлороформ – этилацетат – уксусная кислота (50:50:1)

Вещество	$R_f$
Фенол	0.67
Бисфенол А	0.73



а) ЛД фенола

б) ЛД БФА

Рис.6.5. Профили ЛД фенола и БФА

На рис. 6.5 показаны построенные ЛД для фенола и БФА. В качестве идентификационного критерия использовали критерий подобия фигур ( $\epsilon$ ), предложенный в работе [100]. Форма ЛД для фенола принята в качестве фигуры сравнения, критерий подобия фигур для нее равен нулю, критерий  $\epsilon$  фигуры ЛД в модельном растворе БФА совпал с  $\epsilon$  фигуры ЛД в реальном анализе ( $\epsilon = 0.35$ ). Если размеры ЛД (периметр или площадь) зависят от концентрации аналита, то форма характеризует структуру вещества. Чем больше геометрические размеры ЛД, тем меньше концентрация. Однако БФА имеет 2 гидроксильные группы, способные на цветные реакции, поэтому при одинаковых концентрациях ЛД фенола будет больше, чем ЛД БФА (геометрические параметры ЛД обратно пропорциональны количеству реакционноспособных групп). В тал. 6.5 приведены градуировочные уравнения, построенные по результатам измерений размеров ЛД для БФА.

Таблица 6.5. Градуировочные уравнения для определения БФА методом ЦЦМ-ТСХ ( $S$  – площадь ЛД,  $P$  – периметр ЛД,  $n=5$ )

$S=[(-34.2\pm 1.2)\times C+(15.1\pm 0.9)]\times 10^3$	$R^2=0.99$
$P=[(-7.5\pm 0.2)\times C+(5.1\pm 0.3)]\times 10^2$	$R^2=0.98$

Таким образом, усовершенствованная гибридная методика определения БФА методом ТСХ в сочетании с ЦЦМ с применением смартфона повышает идентификационную информативность тест-контроля БФА за счет увеличения количества регистрируемых аналитических сигналов ( $R_f$  и 6 интенсивностей трех компонент цветности для 2 цветных реакций). При этом методика характеризуется простотой приемов, аппаратуры, недорогим оборудованием, имеет удовлетворительные метрологические характеристики.

## Заключение

В ходе проведенных исследований показано, что наряду с референтными способами определения для надежной идентификации аналитов или экспресс-анализа целесообразно применение альтернативных способов, основанных на различающихся методах детектирования, например, сочетание метода ГХ-ПИД и ГХ-МС, или сочетание метода ГХ-ПИД и ДСК, ГХ-ПИД и пиролизической ГХ-МС, ГХ-ПИД и ИКС, ТСХ и ЦЦМ. Комплексный подход в анализе многокомпонентной пищевой продукции является наиболее эффективным в решении аналитических задач в области контроля качества и безопасности, подлинности и натуральности пищевой продукции. По результатам выполненной работы можно сделать следующие выводы:

1. Подобраны условия экспрессного определения метанола, кротонового альдегида, БФА в этаноле, спиртовых растворах и экстрактах методом ГХ-МС, пригодные для разработки референтных методик определения этих контаминантов. Для БФА разработан прямой способ определения без получения летучих производных методом ГХ-МС.
2. Разработаны подходы для комплексного применения хроматографических и теплофизических данных в идентификации натуральных растительных масел и молочного жира. Создан программно-аналитический комплекс «Система идентификации пищевых жиров и масел» с пополняемой и редактируемой базой данных. Анализ полученных данных показал необходимость расширить нормативные диапазоны варьирования жирно-кислотного и триглицеридного состава натурального молока коров.
3. Обнаружено наличие естественных корреляций в химическом составе жировой фазы в натуральных маслах и жирах. Найденные корреляции в триглицеридном составе масла какао, молочного жира коров предложены в качестве критериев натуральности этих продуктов.
4. Установлена взаимосвязь теплофизических параметров масла расторопши, молочного жира с триглицеридным составом этих продуктов.

Показано, что способ ДСК может быть самостоятельным, альтернативным хроматографическим способам, для определения подлинности масложировой продукции.

5. Разработаны способы применения цифровой цветометрии при помощи смартфона в оценке цветного числа растительных масел и в определении методом ТСХ экотоксиканта БФА.

Рекомендации по использованию результатов работы и перспективы дальнейшей разработки темы связаны с возможностью распространения предложенного комплексного подхода и на другие объекты пищевой промышленности, в частности, экспресс-анализ методом ГХ-МС, методом ЦЦМ, в том числе в тандеме с ТСХ. ДСК перспективна для контроля качества масложировой продукции как самостоятельный метод.

## Список литературы

1. Селеменев, В.Ф. Воронежские научные школы по хроматографическим и другим родственным методам / В.Ф. Селеменев, О.Б. Рудаков // Аналитика. – 2023. – Т. 13, № 3 – С. 226–230. DOI 10.22184/2227-572X.2023.13.3.226.230.
2. Рудаков, О.Б. Хроматография и мы. К 150-летию со дня рождения М.С. Цвета / О.Б. Рудаков, Е.В. Рыбакова // Химия, физика и механика материалов. – 2022. № 2(33). – С. 108–123.
3. Селеменев, В.Ф. Наследие М.С. Цвета в трудах воронежских химиков: В 2 томах / В.Ф. Селеменев, О.Б. Рудаков, Д.Л. Котова и др. Том 1. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», – 2021.– 358 с.
4. Селеменев, В.Ф. Наследие М.С. Цвета в трудах воронежских химиков: В 2 томах / В.Ф. Селеменев, О.Б. Рудаков, Д.Л. Котова и др. Том 2. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», – 2021. – 330 с.
5. Селеменев, В.Ф. Липидомика / В.Ф. Селеменев, Л.В. Рудакова, О.Б. Рудаков и др. Воронеж: Научная книга, – 2023. – 316 с.
6. Селеменев, В.Ф. Витамины как объекты пищевой химии и фармакологии / В.Ф. Селеменев, Л.В. Рудакова, О.Б. Рудаков и др. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», – 2022. – 212 с.
7. Рудаков, О.Б. Технохимический контроль в технологии жиров и жирозаменителей / О.Б. Рудаков, Н.В. Королькова, К.К. Полянский и др. Санкт-Петербург: Издательство «Лань», – 2020. – 576 с.
8. Селеменев, В.Ф. Фосфолипиды на фоне природных матриц / В.Ф. Селеменев, Л.В. Рудакова, О.Б. Рудаков и др. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», – 2020. – 318 с.
9. Долгоносков, А.М. Колоночная аналитическая хроматография: практика, теория, моделирование / А.М. Долгоносков, О.Б. Рудаков, А.Г. Прудковский. Санкт-Петербург: Издательство «Лань», – 2015. – 468 с.
10. Рудаков, О.Б. Информационные технологии в аналитическом контроле биологически активных веществ / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова. Санкт-Петербург: Лань, – 2022. – 364 с.

11. Полянский, К.К. Натуральные и искусственные подсластители. Свойства и экспертиза качества / К.К. Полянский, О.Б. Рудаков, Г.К. Подпоринова и др. Москва: ООО «ДеЛи принт», – 2009. – 252 с.
12. Рудаков, О.Б. Жиры. Химический состав и экспертиза качества / О.Б. Рудаков, А.Н. Пономарев, К.К. Полянский, А.В. Любарь. Москва: ООО «ДеЛи принт», – 2005. – 312 с.
13. Рудаков, О.Б. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, И.А. Востров и др. Воронеж, – 2004. – 526 с.
14. Рудаков, О.Б. Аминокислотный анализ белков мяса / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Мясные технологии. – 2020. № 2(206). – С. 29–35.
15. Рудаков, О.Б. Аналитический контроль контаминантов в пищевой продукции — гарантия ее качества и безопасности / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова, К.К. Полянский // Инновационное предпринимательство: социально-экономические и маркетинговые аспекты: материалы Международной научно-практической конференции. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», – 2017. – С. 362–368.
16. Яшин, А. Определение суммарного содержания жирорастворимых антиоксидантов в молочных, рыбных, мясных продуктах и растительных маслах / А. Яшин, Я. Яшин, Н. Черноусова // Аналитика. – 2012. № 5(6). – С. 16–21.
17. Яшин, Я.И. Аналитическая хроматография. Методы, аппаратура, применение / Я.И. Яшин, А.Я. Яшин // Успехи химии. – 2006. – Т. 75, № 4. – С. 366–379.
18. Рудаков, Я.О. Хроматографические подходы в контроле качества пищевой продукции по химическому составу / Я.О. Рудаков, В.Ф. Селеменев, Л.В. Рудакова, О.Б. Рудаков // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2024. – Т. 24, № 2. С. – 197–208.
19. Лаврухина, О.И. Определение остаточных количеств пестицидов в объектах окружающей среды и пищевых продуктах. Обзор / О.И. Лаврухина,

В.Г. Амелин, Л.К. Киш и др. // Химическая безопасность. – 2022. – Т. 6, № 2. – С. 81–116.

20. Амелин, В.Г. Идентификация и определение пестицидов и полициклических ароматических углеводородов в воде и пищевых продуктах методом хромато-масс-спектрометрии / В.Г. Амелин, Т.Б. Никешина, А.В. Третьяков // Журнал аналитической химии. – 2011. – Т. 66, № 10. – С. 1036–1041.

21. Большаков, Д.С. Современные методы определения подлинности пищевых продуктов / Д.С. Большаков, А.Н. Кочетова, И.В. Подколзин // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2020. – Т. 17. – С. 257–299.

22. Борисова, Т. Контроль качества продуктов питания и пищевого сырья. Решения Шимадзу / Т. Борисова // Аналитика. – 2016. № 3(28). – С. 64–71.

23. Губин, А.С. Применение магнитного сорбента на основе сверхсшитого полистирола в сочетании с газовой хроматографией-масс-спектрометрией для определения хлорфенолов в рыбе пресноводного водоема / А.С. Губин, П.Т. Суханов, А.А. Кушнир // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78, № 5. – С. 427–437. DOI 10.31857/S0044450223050067.

24. Темердашев, А.З. Хроматомасс-спектрометрические методы в аналитической токсикологии и допинг-контроле: дисс. ... доктора хим. наук. – 2021. 373 с.

25. Виноградова, Н.И. Тонкослойная хроматография / Н.И. Виноградова. Москва: МосУМВД России, – 2008. – 23 с.

26. Пацовский, А.П. Современные достижения в области тонкослойной хроматографии / А.П. Пацовский // Мир измерений. – 2013. № 1. – С. 36–40.

27. Сычев, К.С. Подготовка пробы для газовой и жидкостной хроматографии / К.С. Сычев. Москва: Издательство Integrated BioSeparation Solutions OU, – 2019. – 128 с.

28. Рудаков, О.Б. Место хроматографии в контроле качества и безопасности сырья и сельскохозяйственной продукции / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова, К.К. Полянский // Производство и переработка сельскохозяйственной продукции:

менеджмент качества и безопасности: Материалы международной научно-практической конференции. Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, – 2018. – С. 405–410.

29. Ревельский, И.А. Новый подход к оценке безопасности чая, кофе, какао и растительных масел, основанный на быстром скрининге проб образцов на суммарное содержание в них всех F-, Cl-, Br-органических соединений / И.А. Ревельский, М.Е. Чиварзин, М.А. Герасимов и др. // Журнал аналитической химии. – 2021. – Т. 76, № 5. – С. 433–441.

30. Рудаков, О.Б. Тренды в аналитическом контроле качества питьевого этанола / О.Б. Рудаков, С.Ю. Никитина // Аналитика и контроль. – 2017. – Т. 21, № 3. – С. 180–196. DOI 10.15826/analitika.2017.21.3.010.

31. Поляков, В.А. Инструкция по технoхимическому и микробиологическому контролю спиртового производства / В.А. Поляков и др. Москва: ДеЛи принт, – 2007. – 480 с.

32. Пoлыгалина, Г.В. Аналитический контроль производства водок и ликёроводочных изделий / Г.В. Пoлыгалина. Москва: ДеЛи принт, – 2006. – 464 с.

33. Никитина, С.Ю. Схемотехника и методики расчёта брагоректификационных установок / С.Ю. Никитина. Воронеж: ВГАСУ, – 2013. – 208 с.

34. Onuki S. Taking ethanol quality beyond fuel grade: A review / S. Onuki et al. // J. Inst. Brew. – 2016. – V. 122. – P. 588–598.

35. Савчук, С.А. Химия и токсикология этилового спирта и напитков, изготовленных на его основе. Хроматографический анализ спиртных напитков / С.А. Савчук, В.П. Нужный, В.В. Рожанец. Москва: Ленанд, – 2017. – 184 с.

36. Нужный, В.П. Возможность исследования токсичности алкогольной продукции и спиртсодержащих жидкостей современными физико-химическими методами / В.П. Нужный, Р.С. Рыков, С.А. Савчук // Наркология. – 2007. – Т. 6, № 9. – С. 20–25.

37. Вязьмина, Н.А. Исследование примесного состава этилового спирта и продуктов его ректификации / Н.А. Вязьмина, С.А. Савчук // Партнеры и конкуренты. – 2002. № 2. – С. 30–40.
38. Buglass, A.J. Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects / A.J. Buglass. John Wiley & Sons, Ltd, – 2011. – 1204 p.
39. Plutowska, B. Application of gas chromatography-olfactometry (GC-O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages — A review / B. Plutowska, W. Wardencki // Food Chemistry. – 2008. – V. 107. – P. 449–463.
40. Козинер, Е.Д. Дифференциация этанолов по содержанию  $^{14}\text{C}$  и  $^3\text{H}$  / Е.Д. Козинер, А.М. Пчелинцева // Экспертная практика и новые методы исследования. – 1997. № 1-2. – С. 3–10.
41. Вязьмина, Н.А. Применение методов газовой хроматографии для идентификации происхождения спирта / Н.А. Вязьмина, С.А. Савчук // Журнал аналитической химии. – 2002. – Т. 57, № 8. – С. 813–819.
42. Муратшин, А.М. Идентификация примесей в этаноле / А.М. Муратшин, В.Я. Белобрагин, С.А. Карповская // Башкирский химический журнал. – 1998. – Т. 5, № 2. – С. 56–58.
43. Муратшин, А.М. Способ идентификации спирта этилового и этанолсодержащих жидкостей / А.М. Муратшин и др. // Пат. 2348032 РФ. – 2009. Бюл. № 6.
44. Савчук, С.А. Применение хроматографии и спектрометрии для идентификации подлинности спиртных напитков / С.А. Савчук // Журнал аналитической химии. – 2001. – Т. 56, № 3. – С. 246–264.
45. Савчук, С.А. Маркеры природы этилового спирта: хроматографические методы их обнаружения / С.А. Савчук, Г.М. Колесов // Журнал аналитической химии. – 2005. – Т. 60. – С. 1239–1250.
46. Грязнов В.П. Практическое руководство по ректификации спирта / В.П. Грязнов. Москва: Пищевая промышленность, – 1968. – 195 с.
47. Шелехова, Н.В. Экспресс-метод определения летучих органических примесей в спиртных дистиллированных напитках на основе сочетания

ГХ/ПИД и ГХ/МСД / Н.В. Шелехова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2022. – Т. 22, № 1. – С. 58–68.

48. Шелехова, Н.В. Совершенствование системы контроля технологических процессов производства спиртных напитков / Н.В. Шелехова, В.А. Поляков // Пиво и напитки. – 2017. № 1. – С. 34–36.

49. Шелехова, Н.В. Современное состояние и перспективы развития контроля качества алкогольной продукции / Н.В. Шелехова, Т.М. Шелехова, Л.И. Скворцова, Н.В. Полтавская // Пищевая промышленность. – 2019. № 4. – С. 117–119.

50. Шелехова, Н.В. Управление технологическими процессами производства алкогольной продукции с применением информационных технологий / Н.В. Шелехова, Л.В. Римарева // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2017. № 3. – С. 28–31.

51. Шелехова, Н.В. Определение содержания денатурирующей добавки (кронового альдегида) в этиловом спирте и спиртосодержащей продукции методом газовой хроматографии / Н.В. Шелехова, Т.М. Шелехова, О.В. Веселовская, Л.И. Скворцова // Наука и образование в жизни современного общества: сб. научных трудов по материалам междунар. научно-практической конференции. Тамбов: ООО «Консалтинговая компания Юком», – 2015. – С. 161–162.

52. Wyganowski, C. Spectrophotometric determination of crotonaldehyde / C. Wyganowski // Mikrochim Acta. – 1978. – V. 69. – P. 229–232.

53. Методические указания по измерению концентраций вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Выпуск N 27. Часть 2 / Под ред. В.А. Полякова. Москва: МП «Рарог», – 1992. – С. 415–419.

54. Pohanish, R.P. Crotonaldehyde / R.P. Pohanish // Sittig's hand-book of toxic and hazardous chemicals and carcinogens. 6th ed. Oxford: Elsevier, – 2012. – P. 2044–2297. DOI: 10.1016/C2009-0-64361-0.

55. Bagchi, P. Crotonaldehyde exposure in US tobacco smokers and nonsmokers: NHANES 2005–2006 and 2011–2012 / P. Bagchi, N. Geldner, B.R. de Castro, V.R.

- De Jesús, S.K. Park, B.C. Blount // *Environ Res.* – 2018. V. 163. – P. 1–9. DOI: 10.1016/j.envres.2018.01.033.
56. Blumenstein, J. Crotonaldehyde and crotonic acid / J. Blumenstein, R.P. Schulz, C. Kohlpaintner // *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. 7th ed. New York: John Wiley, – 2000. – P. 1–9. DOI: 10.1002/14356007.a08\_083.
57. Рудаков, О.Б. Низкотемпературное разделение и концентрирование в условиях образования гетерогенных систем (обзор) / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, Л.В. Рудакова // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2019. – Т. 19, № 4. – С. 418–433. DOI 10.17308/sorpchrom.2019.19/780.
58. Рудаков, О.Б. Хроматографические и экстракционные свойства ацетонитрила и его смесей с водой / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, Л.В. Рудакова, Е.А. Подолина // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2018. – Т. 18, № 4. – С. 458–478. DOI 10.17308/sorpchrom.2018.18/554.
59. Столяров, Б.В. Газохроматографический парофазный анализ реакционных систем: диссертация ... доктора хим. наук / Б.В. Столяров. Санкт-Петербург, – 2000. – 397 с.
60. Амелин, В.Г. Сочетание метода QuEChERS с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией и получением производных при определении диэтилстильбэстрола и бисфенола А в продуктах питания методом газожидкостной хроматографии / В.Г. Амелин, Д.С. Королев, А.В. Третьяков // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2012. – Т. 12, № 4. – С. 17–22.
61. Рудаков, О.Б. Современное состояние количественного контроля углеводов в пищевых продуктах методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (обзор) / О.Б. Рудаков, Н.С. Родионова, О.Н. Бочарова // *Хранение и переработка сельхозсырья*. – 1999. № 2. – С. 52–56.
62. Рудаков, О.Б. Возможности пиролитической хроматографии в идентификации молочного жира / О.Б. Рудаков, А.И. Боев, С.Ю. Никитина и др. // *Хранение и переработка сельхозсырья*. – 2002. № 3. – С. 49–52.

63. Рудаков, О.Б. Применение пиролизической хромато-масс-спектрометрии в контроле качества строительных полимеров и композитов / О.Б. Рудаков, А.М. Хорохордин, Я.О. Рудаков, Е.А. Хорохордина // Строительные материалы. – 2022. № 8. – С. 65–69. DOI 10.31659/0585-430X-2022-805-8-65-69.
64. Рудаков, О.Б. Бисфенол А: с чем его едят? / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Переработка молока. – 2019. № 6(236). – С. 24–26. DOI 10.33465/2222-5455-2019-6-24-26.
65. Рудаков, О.Б. ПЭТ-упаковка на взгляд химика-аналитика / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Переработка молока. – 2019. № 8(238). – С. 36–41. DOI 10.33465/2222-5455-2019-8-36-40.
66. Рудаков, О.Б. Наночастицы из пластика — актуальный контаминант пищевой продукции / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Мясные технологии. – 2019. № 10(202). – С. 48–51. DOI 10.33465/2308-2941-2019-10-48-51.
67. Рудаков О.Б. Обесогены — серьезная проблема пищевой индустрии / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Мясные технологии. – 2024. № 2. – С. 38–41.
68. О'Брайен, Р.Д. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение / Р.Д. О'Брайен; пер. с англ. 2-го изд. Санкт-Петербург: ИД «Профессия», – 2007. – 752 с.
69. Рудаков, О.Б. Технохимический контроль в технологии жиров и жирозаменителей / О.Б. Рудаков, Н.В. Королькова, К.К. Полянский, Л.В. Рудакова, О.А. Котик. Санкт-Петербург: Лань, – 2024. – 576 с.
70. Рудаков, О.Б. Товарный менеджмент. Экспертиза и оценка качества жировых товаров / О.Б. Рудаков, Э.П. Лесникова, К.К. Полянский, И.Н. Семенова. Санкт-Петербург: Лань, – 2020. – 304 с.
71. Саранов, И.А. Дифференциальная сканирующая калориметрия в определении качества продукции на основе молочного жира / И.А. Саранов, О.Б. Рудаков, Я.О. Рудаков и др. // Лаборатория и производство. – 2024. № 3-4. – С. 102–111.
72. Саранов, И.А. Методы ГЖХ, ДСК и ИК-спектроскопии в изучении коровьего молочного жира / И.А. Саранов, Я.О. Рудаков, О.Б. Рудаков и др. //

Сорбционные и хроматографические процессы. – 2024. – Т. 24, № 3. – С. 335–352.

73. Tan, C.P. Differential Scanning Calorimetric Analysis of Edible Oils: Comparison of and Chemical Composition Thermal Properties / C.P. Tan, Y.B. Cheman // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2000. – V. 77, № 2. – P. 143–155. DOI: 10.1007/s11746-000-0024-6.

74. Aktaş, N. Detection of beef body fat and margarine in butter fat by differential scanning calorimetry / N. Aktaş, M. Kaya // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2001. – V. 66. – P. 795–801. DOI: 10.1023/A:1013196106365.

75. Shen, Z. Melting Behavior of Blends of Milk Fat with Hydrogenated Coconut and Cottonseed Oils / Z. Shen et al. // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2001. – V. 78, № 4. – P. 387–394. DOI: 10.1007/s11746-001-0273-4.

76. Tomaszewska-Gras J. Melting and crystallization DSC profiles of milk fat depending on selected factors / J. Tomaszewska-Gras // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2013. – V. 113, № 1. – P. 199–208.

77. Tomaszewska-Gras J. Rapid quantitative determination of butter adulteration with palm oil using the DSC technique / J. Tomaszewska-Gras // Food Control. – 2016. – Т. 60, № 2. – P. 629–635. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.09.001.

78. Рудаков, О.Б. Термический анализ в контроле качества сливочного масла / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, К.К. Полянский // Молочная промышленность. – 2018. № 11. – С. 38–40.

79. McCarthy, O.J. Physical Characterization of Milk Fat and Milk Fat-Based Products / O.J. McCarthy, M. Wong // Advanced Dairy Chemistry. V. 2: Lipids. New York: Springer, – 2020. – P. 375–442.

80. Lopez, C. Crystallization properties of milk fats / C. Lopez // Crystallization of lipids: Fundamentals and applications in food, cosmetics, and pharmaceuticals. – 2018. – P. 283–321.

81. Полянский, К.К. Дифференциальный термический анализ пищевых жиров / К.К. Полянский, С.А. Снегирев, О.Б. Рудаков. Москва: ДелиПринт, – 2004. – 85 с.

82. Рудаков, О.Б. Можно ли с помощью ДТА обнаружить минорные добавки заменителей молочного жира в сливочном масле? / О.Б. Рудаков и др. // Сыроделие и маслоделие. – 2015. № 5. – С. 50–53.
83. Майоров, А.А. Термический анализ жиров с использованием установки «Термоскан» / А.А. Майоров, Д.А. Усатюк // Техника и технология пищевых производств. – 2017. – Т. 46, № 3. – С. 55–60.
84. Апяри, В.В. Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе / В.В. Апяри, М.В. Горбунова, А.И. Исаченко и др. // Журнал аналитической химии. – 2017. – Т. 72, № 11. – С. 963–977.
85. Рудаков, О.Б. Цифровая цветометрия в фармацевтическом анализе и контроле продуктов питания / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова, М. Аббуд // Аналитика. – 2024. – Т. 14, № 1. – С. 58–67.
86. Черноусова, О.В. Цифровые изображения в аналитической химии для количественного и качественного анализа / О.В. Черноусова, О.Б. Рудаков // Химия, физика и механика материалов. – 2019. № 2. – С. 55–125.
87. Лютов, В.П. Цветоведение и основы колориметрии / В.П. Лютов, П.А. Четверкин, Г.Ю. Головастикова. Москва: Юрайт, – 2023. – 224 с.
88. Черноусова, О.В. Цветометрическое определение цветности сахара с использованием мобильных устройств / О.В. Черноусова, О.Б. Рудаков, Я.О. Рудаков // Донецкие чтения 2021: материалы VI Международной научной конференции. Том 1. Донецк: Донецкий национальный университет, – 2021. – С. 182–184.
89. Рудакова, Л.В. Возможности применения цифровой цветометрии в фармацевтическом анализе / Л.В. Рудакова, Е.Н. Ветрова, Т.Н. Никитина, М.И. Алехина // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2019. – Т. 22, № 3. – С. 104–109.
90. Рудаков, О.Б. Цифровая цветометрия в контроле качества молочной продукции / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Переработка молока. – 2018. № 7(225). – С. 40–43.

91. Рудакова, Л.В. Цветометрическая альтернатива флуориметрии для определения фолиевой кислоты / Л.В. Рудакова, Е.Н. Ветрова, Я.О. Рудаков, П.С. Шевелев // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2021. № 2. – С. 14–19.
92. Хрипушин, В.В. Цветометрические методики определения цветного числа растительных масел / В.В. Хрипушин, Л.В. Рудакова, О.Б. Рудаков, О.В. Байдичева // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2008. – Т. 74, № 5. – С. 9–13.
93. Рудаков, Я.О. Применение смартфона для контроля цветных чисел растительных масел во внелабораторных условиях / Я.О. Рудаков, А. Мохамед, О.Б. Рудаков и др. // Химия, физика и механика материалов. – 2022. № 1(32). – С. 120–128.
94. Байдичева, О.В. Цветометрическое количественное определение аминокислот и глицилглицина в водных растворах / О.В. Байдичева, В.В. Хрипушин, Л.В. Рудакова, О.Б. Рудаков // Пищевая промышленность. – 2011. № 10. – С. 26–28.
95. Алейников, А.Ф. Оценка качества мяса птицы по результатам анализа его цветовых характеристик / А.Ф. Алейников, И.Г. Пальчикова, Е.С. Смирнов // Вычислительные технологии. – 2016. – Т. 21, S1. – С. 27–40.
96. Семенова, И.Н. Разработка методики контроля цвета животных жиров при комплексной оценке их физико-химических показателей / И.Н. Семенова, Г.А. Пелевина, Н.Е. Суркова, О.Б. Рудаков // Масла и жиры. – 2006. № 2. – С. 3–4.
97. Саката, Р. Исследование по снижению использования нитрита и нитрата в мясных продуктах при добавлении натуральной соли и монооксида углерода / Р. Саката, С. Такеда, М. Вага // Теория и практика переработки мяса. – 2017. № 4. – С. 35–43.
98. Рудаков, О.Б. Возможности цветометрического контроля качества мяса / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Мясные технологии. – 2018. № 4(184). – С. 46–48.

99. Пчелкина, В.А. Возможности применения системы анализа изображения при исследовании мясного сырья и продуктов / В.А. Пчелкина // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 43, № 4. – С. 70–74.
100. Рудаков, О.Б. Усовершенствование способа определения фенолов по цветным реакциям с применением цифровых технологий / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова, И.Г. Кудухова и др. // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 570–579.
101. Дейнека, В.И. Инкрементный подход при определении состава триглицеридов / В.И. Дейнека, В.М. Староверов, Г.М. Фофанов, Л.Н. Балятинская // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36, № 7. – С. 50.
102. Рудаков, О.Б. Определение бисфенола А, триклозана и нонилфенола в материалах и экстрактах методом ТСХ, совмещенным с цифровой цветометрией / О.Б. Рудаков, Е.А. Хорохордина, Л.В. Рудакова, Х.Д. Чан // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2016. – Т. 16, № 5. – С. 686–694.
103. Шелехова, Н.В. Методика определения метанола в спиртных напитках / Н.В. Шелехова, Л.В. Римарева, Т.М. Шелехова и др. // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2017. № 2. – С. 33–35.
104. Шелехова, Н.В. Методы газовой хроматографии, капиллярного электрофореза, хромато-масс-спектрометрии в аналитическом контроле спиртных напитков / Н.В. Шелехова, Т.М. Шелехова, Л.И. Скворцова, Н.В. Полтавская // Пищевая промышленность. – 2021. № 9. – С. 63–64.
105. Никитина, С.Ю. Аналитический контроль качества ректифицированного этанола, водок и спиртовых дистиллятов / С.Ю. Никитина, С.В. Шахов, Д.В. Пыльный, О.Б. Рудаков // Пищевая промышленность. – 2018. № 6. – С. 56–60.
106. Букаев, О.Н. Динамика острых отравлений метанолом и особенности оказания экстренной медицинской помощи в Республике Мордовия / О.Н. Букаев, О.А. Сайгина, Н.В. Малкина и др. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. № 10(2). – С. 278–282.

107. Богомолов, А.Н. Острые отравления суррогатами алкоголя: метанолом и этиленгликолем / А.Н. Богомолов, В.Э. Олецкий, И.М. Григорьев и др. // Медицинский журнал. – 2019. № 3(69). – С. 43–49.
108. Кнауб, В.А. Анализ отравлений метанолом в Алтайском крае в 2017 году / В.А. Кнауб, Н.В. Беляева, Т.Н. Ефремова, Е.А. Сурина // Судебная медицина: вопросы, проблемы, экспертная практика: материалы научно-практической конференции. Новосибирск: ООО «СТТ», – 2018. – С. 77–82.
109. Кузнецов, О.А. Острое отравление метанолом с благоприятным исходом (серия клинических наблюдений) / О.А. Кузнецов, А.В. Федоров // Наркология. – 2019. – Т. 18, № 4. – С. 64–67.
110. Рудаков, О.Б. Экспрессное определение метанола в спиртных напитках методом газовой хромато-масс-спектрометрии / О.Б. Рудаков, Н.В. Шелехова, Я.О. Рудаков и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2022. – Т. 22, № 2. – С. 116–125.
111. Рудаков, О.Б. Определение фурфурола в этиловом спирте и водках методом газовой хромато-масс-спектрометрии / О.Б. Рудаков, Н.В. Шелехова, К.К. Полянский, В.Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2021. – Т. 21, № 6. С. 812–818. DOI: 10.17308/soipchrom.2021.21/3826.
112. Никитина, С.Ю. Применение хромато-масс-спектрометрии для идентификации микропримесей в побочных фракциях ректифицированного спирта из мелассы / С.Ю. Никитина, О.Б. Рудаков, А.М. Григорьев // Производство спирта и ликёро-водочных изделий. – 2013. № 4. – С. 38–41.
113. Никитина, С.Ю. Современное состояние и основные направления развития технологии ректификационной очистки пищевого этанола в России / С.Ю. Никитина // Производство спирта и ликёро-водочных изделий. – 2011. № 3. – С. 4–7.
114. Шелехова, Н.В. Экспресс-метод определения летучих органических примесей в спиртных дистиллированных напитках на основе сочетания

ГХ/ПИД и ГХ/МСД / Н.В. Шелехова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2022. – Т. 22, № 1. – С. 58–68.

115. Марковский, М.Г. Кротоновый альдегид: причины образования и методика определения / М.Г. Марковский, Т.И. Гугучкина, Н.М. Агеева // Биологизация и экологизация технологии производств — приоритетные направления развития виноделия: Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ. Краснодар, – 2013. – Т. 4. – С. 185–187.

116. Самохин, А.С. Возможность достоверной идентификации неизвестных соединений при использовании программы MS Search и коммерческой базы данных масс-спектров электронной ионизации / А.С. Самохин, А.И. Ревельский, Д.А. Чепелянский, И.А. Ревельский // Масс-спектрометрия. – 2011. – Т. 8, № 1. – С. 65–67.

117. Самохин, А.С. Надежное сопоставление масс-спектров, зарегистрированных в идентичных условиях, с помощью метода главных компонент / А.С. Самохин, И.А. Ревельский // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16, № 3. – С. 269–274.

118. Кушнерева, Е.В. Методы определения кротонового альдегида в пищевых продуктах / Е.В. Кушнерева // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2013. № 94. – С. 312–324.

119. Короткова, Т.Г. Расчет равновесия кротонового альдегида в схеме брагоректификации / Т.Г. Короткова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2016. № 4(352). – С. 100–102.

120. Кушнерева, Е.В. К вопросу биосинтеза кротонового альдегида винными дрожжами и молочнокислыми бактериями в процессе винификации / Е.В. Кушнерева, Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. № 95. – С. 347–372.

121. Марковский, М.Г. Разработка универсальной методики определения кротонового альдегида в винопродукции / М.Г. Марковский, Т.И. Гугучкина,

Н.М. Агеева // Научные труды Государственного научного учреждения Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2013. – Т. 4. – С. 185–187.

122. Нигматуллин, А.Т. Идентификация методом хромато-масс-спектрометрии микропримесей в синтетическом этиловом спирте и полученном из природного сырья: дис. ... канд. хим. наук / А.Т. Нигматуллин. Уфа, – 2006. – 213 с.

123. Чумбалова, Ж.А. Аналитические возможности спектрофотометрии при определении кротонового альдегида / Ж.А. Чумбалова, В.О. Ветштейн // Интеграция науки и образования: сб. статей по материалам междунар. научно-практической конференции. – 2017. – С. 86–88.

124. ГОСТ 31811-2012 «Спирт этиловый и спиртосодержащая продукция. Газохроматографический метод определения содержания кротонового альдегида (денатурирующей добавки)». Москва: Стандартинформ, – 2012. – 16 с.

125. Рудаков, О.Б. Экспрессное определение кротонового альдегида в спиртных напитках методом газовой хромато-масс-спектрометрии / О.Б. Рудаков, Н.В. Шелехова, Я.О. Рудаков и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2022. – Т. 22, № 5. – С. 580–590.

126. Сперанская, О.А. Миграция бисфенола А из бутылок для питья многоразового использования, поступающих на российский рынок / О.А. Сперанская, Я.Г. Гурский // Химическая безопасность. – 2021. – Т. 5, № 2. – С. 186.

127. Рудаков, О.Б. Применение МС-ВЭЖХ в определении бисфенола А в пищевой пластиковой таре, используемой во Вьетнаме / О.Б. Рудаков, Е.А. Хорохордина, Х.Д. Чан, Л.В. Рудакова // Аналитика Сибири и Дальнего Востока: материалы X Всеросс. научной конф. Барнаул: Алтайский гос. ун-т, – 2016. – С. 147.

128. Рудаков, О.Б. Опасен ли бисфенол А в консервах? / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Мясные технологии. – 2019. № 7(199). – С. 24.
129. Чан, Х.Д. Хромато-масс-спектрометрическое определение бисфенола А в пластиковой таре / Х.Д. Чан, Е.А. Хорохордина, О.Б. Рудаков // Научный вестник Воронежского государственного архитектурно-строительного университета. Серия: Физико-химические проблемы и высокие технологии строительного материаловедения. – 2015. № 2(11). – С. 94.
130. Feshin, D.B. Determination of bisphenol A in foods as 2,2-bis-(4-(isopropoxycarbonyloxy) phenyl)propane by gas chromatography/mass spectrometry / D.B. Feshin, P.V. Fimushkin, E.S. Brodskii et al. // Journal of Analytical Chemistry. – 2012. Vol. 67, № 5. – P. 460–466.
131. Королев, Д.С. Газожидкостная хроматография и дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция при определении бисфенола А и диэтилстильбэстрола в воде и напитках / Д.С. Королев, В.Г. Амелин, А.В. Третьяков // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 266.
132. Vela-Soria, F. UHPLC–MS/MS method for the determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives, bisphenol S, parabens, and benzophenones in human urine samples / F. Vela-Soria, O. Ballesteros, A. Zafra-Gómez et al. // Anal. Bioanal. Chem. – 2014. – V. 406, № 15. – P. 3773.
133. Рудаков, О.Б. Контроль отверждения эпоксидной смолы по содержанию свободного бисфенола А методом ТСХ / О.Б. Рудаков, Е.А. Хорохордина, С.С. Глазков, А.М. Хорохордин, А.С. Губин // Аналитика и контроль. – 2017. – Т. 21, № 2. – С. 135.
134. Шварцльмюллер, Э. Аспекты влияния упаковки для напитков на здоровье / Э. Шварцльмюллер, Х. Бругер // Информация об экологической политике. 2011. № 185. URL: [http://barley-malt.ru/wp-content/uploads/2014/03/yssledovanye-pyuet\\_avstryja.pdf](http://barley-malt.ru/wp-content/uploads/2014/03/yssledovanye-pyuet_avstryja.pdf) (дата обращения: 25.01.2024).

135. Бёккер, Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза / Ю. Бёккер. Москва: Техносфера, – 2009. – 458 с.
136. Иоутси, А.Н. Практические рекомендации по выбору неподвижной жидкой фазы и геометрических параметров колонки при определении триэтиламина методом газовой хроматографии / А.Н. Иоутси, М.А. Сумцов, А.Т. Сарницкая, А.Н. Блинов // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2017. № 3. – С. 170.
137. Frontier Lab. Analysis of Free Alkylphenols and Phthalate Esters Using Ultra ALLOY®-5(P) Column. 2024. URL: <https://www.frontier-lab.com/assets/file/technical-note/UAA-001E.pdf> (дата обращения: 27.01.2024).
138. Agilent. Колонки хроматографические Agilent для газовой хроматографии. 2024. URL: <https://dv-expert.org/laboratornoe-oborudovanie/kolonki-hromatograficheskie-agilent-dlya-gazovoi-hromatografii> (дата обращения: 25.01.2024).
139. Шелехова, Н.В. Определение летучих органических примесей в виски методом газовой хромато-масс-спектрометрии / Н.В. Шелехова, Т.М. Шелехова, Л.И. Скворцова, Н.В. Полтавская // Техника и технология пищевых производств. – 2022. – Т. 52, № 4. – С. 787.
140. Method of Gas Chromatography–Mass Spectrometry for the Determination of Free Bisphenol A in Ethanol Extracts / **Ya. O. Rudakov**, V. F. Selemenov, N. V. Shelekhova [et al.] // Journal of Analytical Chemistry. – 2024. – Vol. 79, No. 9. – P. 1289-1295.
141. Yakovlev, V.S. Method of Gas Chromatography–Mass Spectrometry for the Determination of Free Bisphenol A in Ethanol Extracts / V.S. Yakovlev et al. // Journal of Analytical Chemistry. – 2024. – Vol. 79, No. 9. – P. 1289–1295.
142. Яковлев, В.С. Газохроматографический анализ жирно-кислотного состава сливочного масла / В.С. Яковлев, Т.С. Куликовская, Б.А. Крапивкин // Молочная промышленность. – 2000. № 1. – С. 39–43.

143. Рудаков, О.Б. Развитие метода интерпретации хроматограмм при идентификации растительных масел / О.Б. Рудаков // Химия растительного сырья. – 2001. № 4. – С. 77–82.
144. Baltes, W. Lebensmittelchemie / W. Baltes. 4 Aufl. Berlin: Springer, – 1995. – 474 с.
145. Химическая энциклопедия. Т. 2 / Гл. ред. И.Л. Кнунянц. Москва: Советская энциклопедия, – 1990. – 671 с.
146. Технология переработки жиров / Под ред. Н.С. Арутюняна. Москва: Колос, – 1998. – 452 с.
147. ГОСТ 30623-2018 «Масла растительные и продукты со смешанным составом жировой фазы. Метод обнаружения фальсификации». Москва: Стандартинформ, – 2018. – 16 с.
148. Саранов, И.А. Программно-аналитический комплекс «Система идентификации пищевых жиров и масел» / И.А. Саранов, Я.О. Рудаков, Д.Б. Паринов, К.К. Полянский // Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2024619506. 2024.
149. Козырь, Н.В. Веб-ориентированная информационно-справочная система по жирнокислотному составу растительных масел / Н.В. Козырь, М.Ю. Сергеев, Я.О. Рудаков и др. // Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство: материалы VIII Международной научно-технической конференции. Воронеж: ВГУИТ, – 2023. – С. 92–97.
150. Рудаков, О.Б. Применение метаданных в газовой хроматографии для идентификации растительных масел, применяемых в получении масляных красок / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, Я.О. Рудаков и др. // Химия, физика и механика материалов. – 2020. № 2(25). – С. 111–128.
151. Товстановская, Т.Г. Корреляционные взаимосвязи между биохимическими показателями масла и продолжительностью основных фаз вегетации у коллекционных образцов льна масличного / Т.Г. Товстановская //

Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всеросс. НИИ масличных культур. – 2014. № 1(157–158). – С. 24–27.

152. Пороховинова, Е.А. Биохимическое разнообразие льна по жирнокислотному составу семян в генетической коллекции ВИР и влияние условий среды на его проявление / Е.А. Пороховинова, Т.В. Шеленга, Л.А. Косых и др. // Экологическая генетика. – 2016. – Т. 14, № 1. – С. 13–26. DOI: 10.17816/ecogen14113-26.

153. Рудаков, О.Б. Природная изменчивость жирнокислотного состава пальмового масла / О.Б. Рудаков, К.К. Полянский // Переработка молока. – 2018. № 4(222). – С. 50–51.

154. Дейнека, В.И. Сопоставление эффективности методов ГЖХ и ВЭЖХ при дифференциации растительных масел, содержащих изомеры октадекатриеновых кислот / В.И. Дейнека, А.В. Туртыгин, Л.А. Дейнека // Аналитика и контроль. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 314.

155. Ань, В.Н. Установление подлинности сыров методом обращенно-фазовой ВЭЖХ / В.Н. Ань, В.И. Дейнека, Ч.Т.Н. Хиен, Л.А. Дейнека, О.Б. Рудаков // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2018. – Т. 18, № 6. – С. 816.

156. Нгуен, А.В. Определение триацилглицеринов масла манкетти методом обращенно-фазовой ВЭЖХ / А.В. Нгуен, А.А. Попова, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека // Журнал аналитической химии. – 2017. – Т. 72, № 9. – С. 854.

157. Дейнека, В.И. Использование обращенно-фазовой ВЭЖХ в установлении подлинности жиров и масел / В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, И.П. Анисимович, В.А. Перистый, А.В. Туртыгин // Заводская лаборатория. – 2008. – Т. 74, № 3. – С. 15.

158. Podlaha, O. System for identification of triglycerides in reversed phase HPLC chromatograms based on equivalent carbon numbers / O. Podlaha, B. Toregerd // Journal of High Resolution Chromatography. – 1982. – V. 5. – P. 553.

159. Lipp, M. Food Chemistry / M. Lipp, E. Anklam // Food Chemistry. 1998. V. 62. P. 99–108. DOI: 10.1016/S0308-8146(97)00160-X.

160. Индина, И.В. Обращенно-фазовая ВЭЖХ в определении подлинности масла какао в составе шоколада / И.В. Индина, А.В. Туртыгин, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013. – Т. 13, № 1. – С. 23–31.
161. Рудаков, О.Б. Применение метаданных в газовой хроматографии для идентификации растительных масел, применяемых в получении масляных красок / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, Я.О. Рудаков и др. // Химия, физика и механика материалов. – 2020. № 2(25). – С. 111–128.
162. Afoakwa, E.O. Chocolate science and technology / E.O. Afoakwa. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2010. 296 p. DOI: 10.1002/9781444319880.
163. Павлова, И.В. Исследование влияния состава триацилглицеринов растительных масел и жиров на скорость миграции жидкой жировой фазы / И.В. Павлова, М.Б. Коблицкая // Вестник Всероссийского научно-исследовательского института жиров. – 2017. № 1-2. – С. 7–11. DOI: 10.25812/VNPIG.2017.2017.19515.
164. Рудаков, О.Б. Статистический подход в определении натуральности жиров по хроматографическим данным / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, О.В. Плотникова и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2002. – Т. 2, № 3. – С. 295–303.
165. Рудаков, О.Б. Жирнокислотный состав молочного жира коров разных пород / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, К.К. Полянский // Переработка молока. – 2024. № 5. – С. 66–69.
166. Зыков, А.В. Газохроматографическое определение количественного состава пищевых эмульгаторов E471 / А.В. Зыков, В.А. Крысанов, Н.Я. Мокшина // Аналитика и контроль. – 2015. – Т. 19, № 2. – С. 169–174.
167. Рудаков, О.Б. Транс-изомерные жирные кислоты: взгляд химика-аналитика / О.Б. Рудаков, Л.В. Рудакова // Переработка молока. – 2019. № 3. – С. 37–39.

168. Fagan, P. Determination of mono- and di-acylglycerols in milk lipids / P. Fagan, C. Wijesundera, P. Watkins // *Journal of Chromatography A*. 2004. V. 1054, № 1–2. P. 251–259. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.04.052.
169. Сарафанова, Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия / Л.А. Сарафанова. Санкт-Петербург: ИД «Профессия», – 2012. – 776 с.
170. Казицина, Л.А. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии / Л.А. Казицина, Н.Б. Куплетская. Москва: Высшая школа, – 1971. – 264 с.
171. Пинентэлл, Д. Водородная связь / Д. Пинентэлл, О. Мак-Клеллан; пер. с англ. Москва: Мир, – 1964. – 462 с.
172. Наканиси, К. Инфракрасная спектроскопия и строение органических соединений / К. Наканиси; пер. с англ. Москва: Мир, – 1965. – 216 с.
173. Карпов, С.И. Инфракрасная спектроскопия сорбентов / С.И. Карпов, В.Ф. Селеменев. Воронеж: Научная книга, – 2024. – 376 с.
174. Дехант, И. Инфракрасная спектроскопия полимеров / И. Дехант, Р. Данц, В. Киммер, Р. Шмольке; пер. с нем. Москва: Химия, – 1976. – 472 с.
175. Рудаков, О.Б. Инфракрасная спектроскопия коровьего молочного жира / О.Б. Рудаков, В.Ф. Селеменев, Я.О. Рудаков, И.А. Саранов // *Переработка молока*. – 2024. № 7(297). – С. 29–31.
176. Рудаков, Я.О. Пиролитическая хромато-масс-спектрометрия молочного жира / Я.О. Рудаков, И.А. Саранов, О.Б. Рудаков // *Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах (ФАГРАН-2024): материалы X Всеросс. конф.* Москва, – 2024. – С. 205–207.
177. Рудаков, О.Б. Дифференциальная сканирующая калориметрия как метод контроля подлинности растительных масел / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, Ван Ань и др. // *Журнал аналитической химии*. – 2021. – Т. 76, № 2. – С. 183–192.
178. Chatziantoniou, S.E. Traceability monitoring of Greek extra virgin olive oil by Differential Scanning Calorimetry / S.E. Chatziantoniou, D.J. Triantafillou, P.D. Karayannakidis, E. Diamantopoulos // *Thermochimica Acta*. – 2014. – V. 576. P. – 9–17.

179. Саранов, И.А. Дифференциальная сканирующая калориметрия жидких растительных масел / И.А. Саранов, О.Б. Рудаков, А.В. Ветров и др. // Химия растительного сырья. – 2020. № 4. – С. 157–164.
180. Куркин, В.А. Расторопша пятнистая: монография / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Е.В. Авдеева и др. Самара: СамГМУ, – 2010. – 118 с.
181. Щекатихина, А.С. Получение биологически активных веществ из семян расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.)) / А.С. Щекатихина, Т.М. Власова, В.П. Курченко // Труды БГУ. – 2008. – Т. 3, № 1. – С. 218–228.
182. Рамазанов, А.Ш. Химический состав плодов и масла расторопши пятнистой, произрастающей на территории Республики Дагестан / А.Ш. Рамазанов, Ш.А. Балаева, К.Ш. Шахбанов // Химия растительного сырья. – 2019. № 2. – С. 113–118.
183. Рамазанов, А.Ш. Экстракция жирного масла из плодов расторопши пятнистой сверхкритическим диоксидом углерода / А.Ш. Рамазанов, Ш.А. Балаева // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2020. – Т. 15, № 4. – С. 49–59.
184. Куркин, В.А. Жирнокислотный состав масла плодов расторопши пятнистой, культивируемой в Самарской области / В.А. Куркин, О.В. Сазонова, Д.В. Росихин, Т.К. Рязанова // Масла и жиры. – 2017. № 3. – С. 101–103.
185. Рудаков, О.Б. Дифференциальная сканирующая калориметрия как метод контроля подлинности масла дикорастущей расторопши пятнистой / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, Ш.А. Балаева, А.Ш. Рамазанов, Я.О. Рудаков // Журнал аналитической химии. – 2021. – Т. 76, № 12. – С. 1137–1145.
186. Акаев, Б.А. Физическая география Дагестана: учебное пособие / Б.А. Акаев, Б.С. Атаев, Б.С. Гаджиев и др. Москва: Школа, – 1996. – 384 с.
187. Ten, Grotenhuis E. Polymorphism of milk fat studied by differential scanning calorimetry and real-time X-ray powder diffraction / E. Ten Grotenhuis et al. // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1999. – V. 76, № 9. – P. 1031–1039.

188. Рудаков, О.Б. Комплексное применение ВЭЖХ, ГЖХ и ДСК в контроле подлинности животных жиров и растительных масел / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, Я.О. Рудаков // Тезисы докладов IV Съезда аналитиков России. Москва, – 2022. – С. 502.
189. Рудаков, Я.О. Применение смартфона для контроля цветных чисел растительных масел во внелабораторных условиях / Я.О. Рудаков, А. Мохамед, О.Б. Рудаков и др. // Химия, физика и механика материалов. – 2022. № 1(32). – С. 120–128.
190. Рудаков, О.Б. Триглицериды коровьего молочного жира / О.Б. Рудаков, И.А. Саранов, Я.О. Рудаков // Переработка молока. – 2024. № 10(300). – С. 65–67.
191. Saranov, I. Study of the influence of cow breed on the fatty acid composition of milk fat and the characteristics of its melting / I. Saranov, O. Rudakov, V. Khvostov, N. Krikunov // BIO Web of Conferences. – 2024. Vol. 118. – P. 01023. DOI 10.1051/bioconf/202411801023.
192. Рудаков, Я.О. Природные корреляции жирных кислот и аминокислот в определении подлинности животноводческой и растительной продукции / Я.О. Рудаков, В.Ф. Селеменев, О.Б. Рудаков // Тезисы докладов IV Съезда аналитиков России. Москва, – 2022. – С. 501.
193. Рудаков, Я.О. Применение смартфона для контроля цветных чисел растительных масел во внелабораторных условиях / Я.О. Рудаков, А. Мохамед, О.Б. Рудаков и др. // Химия, физика и механика материалов. – 2022. № 1(32). – С. 120–128.
194. Rudakov, Ya. O. Chromatographic Methods for Determining Free Bisphenol A in Technical and Food Products / V. F. Selemenев, A. M. Khorokhordin, A. A. Volkov Journal of Analytical Chemistry, – 2024, – Vol. 79, No. 10, – P. 1383–1389.
195. Рудаков, Я.О. Фенотипическая изменчивость аминокислотного и жирнокислотного состава листьев стевии / О. Б. Рудаков, Л. В. Рудакова, В. Ф. Селеменев // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2022. № 1. – С. 14-21.

196. Рудаков, О.Б. Дифференциальная сканирующая калориметрия как метод контроля подлинности масла дикорастущей расторопши пятнистой /И. А. Саранов, Ш. А. Балаева, А. Ш. Рамазанов, Я. О. Рудаков // Журнал аналитической химии. – 2021. – Т. 76, № 12. – С. 1137-1145.
197. Определение подлинности масла какао по данным ВЭЖХ о триглицеридном составе /О. Б. Рудаков, Л. В. Рудакова, И. А. Саранов, Букша М.С., Рудаков Я.О. // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2020. – Т. 20, № 3. – С. 393-399
198. Шелехова, Н.В. Аппаратурное оформление методов газовой хроматографии и капиллярного электрофореза / О. Б. Рудаков, К. К. Полянский, Я. О. Рудаков // Химия, физика и механика материалов. – 2022. № 1(32). – С. 104-119
199. Рудаков, Я.О. Способ определения бисфенола А хромато-масс-спектрометрическим методом / В. Ф. Селеменев, А. М. Хорохордин [и др.] // IV Всеросс. конф. по аналитич. спектроскопии с междунар. участием: мат. конф., Краснодар, 24–30 сентября 2023 года. – Краснодар: КубГУ, 2023. – С. 214.
200. Внелабораторный контроль цветности растительных масел методом цифровой цветометрии мобильными устройствами / Я. О. Рудаков, К. К. Полянский, А. Мохамед, [и др.]// Инновационное предпринимательство: проблемы и пути их решения: Мат. Национальной научно-практич. конф., Воронеж, 27–28 мая 2022 года. Воронеж, – 2022. – С. 186-192
201. Селеменев, В. Ф. Цветометрический контроль качества фармацевтической и пищевой продукции / Л. В. Рудакова, Я. О. Рудаков, [и др.]// Физико-химические методы в междисциплин. экологич. исследованиях: Всеросс. симпозиум и школа-конф. молодых ученых, Севастополь, 27 октября – 03 ноября 2021 г. – Москва: "Граница", 2021. – С. 62-63
203. Рудаков, Я.О., Саранов И.А., Рудаков О.Б. Пиролитическая хромато-масс-спектрометрия молочного жира. Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах (ФАГРАН – 2024): мат.

X Всеросс. конф. с междунар. участием, посвященной 190-летию со дня рождения Д.И. Менделеева (г. Воронеж, 23 – 25 сентября 2024 г.), – 2024. – С.205-207.

204. Saranov, I.A., Rudakov Ya.O., Abboud M., Rudakov O.B. A complex of chromatographic methods and thermal analysis in fats and oils identification. XXII Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry, October 7-12, 2024, Federal Territory “Sirius”, Russia. Book of abstracts in 7 volumes. V. 7. —M.: “Admiral Print” LLC, – 2024. – p. 167

205. Хроматографические способы определения свободного бисфенола А в пластиках / А.М. Хорохордин Я.О. Рудаков, Е.А. Хорохордина [и др.] // Химия, физика и механика материалов, №1(44), 2024, с.69-81.

# Приложение

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2024619506

### Программно-аналитический комплекс «Система идентификации пищевых жиров и масел»

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий» (RU)*

Авторы: *Саранов Игорь Александрович (RU), Рудаков Ярослав Олегович (RU), Паринов Дмитрий Борисович (RU), Полянский Константин Константинович (RU)*

Заявка № 2024618572

Дата поступления 17 апреля 2024 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 24 апреля 2024 г.



Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Ю.С. Зубов*

РФ (Россия)

Общество с ограниченной ответственностью  
«Сельскохозяйственное предприятие

«Новомарковское»

396702 с.Новомарковка Кантемировского района Воронежской области  
ул.Советская. 14 ИНН 3612007551 КПП 361201001, р/с 40702810300250004835  
Филиал ОАО Банк ВТБ в г. Воронеж г.Воронеж  
к/с 30101810100000000835, БИК 042007835, ОГРН 1063627004561  
тел. 49-142, 49-310, 49-131 тел/факс 49-141 эл. почта novomark36@mail.ru

Утверждаю:



#### Технический акт внедрения

Мы, ниже подписавшиеся, комиссия в составе руководителя проекта Саранова И.А. (доц. ВГУИТ), исполнителя Рудакова Я.О. (аспирант ВГУ), исполнителя Полянского К.К. (проф. ВФ РЭУ) и заместителя генерального директора по вопросам животноводства Константиновской А.И. от предприятия ООО СХП «Новомарковское», составили настоящий акт в том, что программно-аналитический комплекс «Система идентификации пищевых жиров и масел» испытан и внедрен для контроля качества масложировой продукции. Программно-аналитический комплекс отличается высокой информативностью и надежностью в идентификации продукции по данным лабораторных анализов.

Ответственный за испытание

и внедрение от предприятия

Константиновская А.И.

Авторы разработки:

Саранов И.А.

Рудаков Я.О.

Полянский К.К.

Общество с ограниченной ответственностью  
**«Зернопродукт»**

Россия, 301840, Тульская область, Ефремовский р-н, г. Ефремов, улица Московская застава, д. 1, оф.1

тел./факс: (48741) 6-01-44, 6-02-66, 6-30-54, 6-57-83

ИНН 7113067263 КПП 711301001 ОГРН 1077142000650 E-mail: zernoef@mail.ru сайт: zpinfo.rosspirom.ru



«УТВЕРЖДАЮ»  
ООО «Зернопродукт»  
Гречаний Д.А.

16 2024 г.

**ТЕХНИЧЕСКИЙ АКТ ИСПЫТАНИЙ**

методов определения микропримесей этилового спирта

от «16» Золотова 2024

Мы, нижеподписавшиеся, д.т.н. профессор кафедры химии ВГУ Селеменов В.Ф. (руководитель проекта), аспирант кафедры химии ВГУ Рудаков Я.О. (исполнитель), д.т.н., директор ООО «НПЦ «Этанол» Никитина С.Ю. (эксперт) и начальник производственной лаборатории ООО «Зернопродукт» Макухина Е.А. (эксперт) составили настоящий акт в том, что способы экспрессного определения метанола и кроптонового альдегида, разработанные на кафедре аналитической химии ВГУ методом газовой хромато-масс-спектрометрии, испытаны для контроля качества ректифицированного этанола. Результаты анализов удовлетворительно совпадали с данными, полученными с помощью гостированных методов хроматографического определения летучих микропримесей этанола (ГОСТ 32039-2013, ГОСТ 30536-2013). Кроптонового альдегида в образцах спирта не обнаружено, метанол, идентифицированный по масс-спектру, содержался в спирте этиловом ректифицированном в концентрациях не более 0.0045% об. Испытанные способы могут быть рекомендованы для идентификации и количественного анализа контаминантов в пищевом ректифицированном этиловом спирте и водках.

Авторы разработки

д.т.н. Селеменов В.В.

Рудаков Я.О.

д.т.н. Никитина С.Ю.

Ответственный за испытание

Макухина Е.А.

от ООО «Зернопродукт»