

1 – ФГБОУ ВО
«Воронежский
государственный
университет», 394006,
Россия, г. Воронеж,
Университетская пл., 1

1 – Voronezh
State University, 1,
University Square,
Voronezh, 394006, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: trineevaov@mail.ru
Тел.: 8 (473) 253 07 89

ОСОБЕННОСТИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЖИРНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ И МАСЛЯНЫХ ЭКСТРАКТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ (ОБЗОР)

О.В. Тринеева^{1*}

Резюме. Масла жирные растительные – это природные смеси, состоящие из триацилглицеридов. В состав жирных масел могут входить различные биологически активные вещества, которые обуславливают соответствующее фармакологическое действие жирного масла. Долгое время (с 1968 по 2015 гг.) в нашей стране контроль качества жирных растительных масел (РМ) регламентировался требованиями общей фармакопейной статьи (ОФС) Государственной фармакопеи (ГФ) СССР X изд. В связи с этим впервые для отечественной Фармакопеи XIII изд. разработан гармонизированный с Европейской Фармакопеей проект ОФС «Масла жирные растительные», в который включены современные требования к качеству и безопасности жирных РМ. Масляные экстракты (МЭ) фармацевтического назначения в настоящее время широко представлены на фармацевтическом рынке в качестве косметических и массажных масел. Для определения соответствия МЭ рекомендуется использовать нормативы СанПин 2.3.2.1078-01 для БАД на основе РМ, ГОСТов и ТУ. В то же время следует отметить, что многие понятия, характеризующие качество растительных масел, трактуются по-разному в соответствующих ГОСТах и ГФ XIII изд. Возникла необходимость обновления и совершенствования гармонизированных с ОФС ГФ XIII изд. фармакопейных статей и другой нормативной документации на отдельные виды масел, применяемых в фармации. В работе проведен анализ современного состояния, перспектив развития и совершенствования подходов к стандартизации и оценке качества РМ и МЭ фармацевтического назначения.

Ключевые слова: масла жирные растительные, масляные экстракты, стандартизация.

FEATURES QUALITY ASSESSMENT AND PROSPECTS STANDARTIZATION FATTY OILS AND OIL EXTRACTS FOR PHARMACEUTICAL PURPOSES (REVIEW)

O.V. Trineeva^{1*}

Abstract. Fatty vegetable oils are natural mixtures of triacylglycerols. The composition of fatty oils may include various biologically active substances, which cause corresponding pharmacological action fatty oil. For a long time (from 1968 to 2015) in our country, fatty oils regulated quality control requirements sheathe pharmacopoeial article (SPA) of the State Pharmacopoeia (SP) of the Soviet Union X Vol. In this regard, the first time for the national pharmacopoeia developed harmonized with the European pharmacopoeia draft SPA «vegetable fatty oils», which includes the modern requirements for quality and safety of fatty oils. Oil extracts of pharmaceutical grade currently widely available in the pharmaceutical market as a beauty and massage oils. To determine whether the oil extracts is recommended to use the standards of sanitary rules and norms 2.3.2.1078-01 for dietary supplements based on plant oils, state standards and technical conditions. At the same time, it should be noted that many of the concepts which characterize the quality of vegetable oils are treated differently in the relevant government standards and SP XIII. There was a need to update and improve the pharmacopoeial article and other normative documents on certain types of oils used in pharmacy, harmonized with the SPA SP XIII ed. The paper analyzes the current state of, and prospects for the development of approaches to improve the standardization and evaluation of the quality of vegetable oils and oil extracts of pharmaceutical grade.

Keywords: vegetable oil fatty, oily extracts, standardization.

ВВЕДЕНИЕ

Масла жирные растительные (*Olea pingui*) – это природные смеси, состоящие из триацилглицеридов (сложных эфиров глицерина с различными, как правило, высшими жирными кислотами). В состав жирных масел могут входить различные биологически активные вещества (БАВ) в виде жирных кислот (ЖК) семейств омега-3 или омега-6; каротиноиды; токоферолы; стерины; лигнаны или другие соединения. РМ

применяются в качестве слабительных, гепатопротекторных, антисклеротических, ранозаживляющих и других средств. Масла жирные, не обладающие выраженной фармакологической активностью, используются в качестве вспомогательных веществ (персиковое, миндальное, подсолнечное, льняное масло и др.) для изготовления лекарственных форм (ЛФ) [1].

К медицинскому применению разрешены следующие жидкие жирные масла

растительного происхождения: миндальное, касторовое, кунжутное, арахисовое, оливковое, рапсовое, кукурузное, соевое и др. Твердыми жирными маслами растительного происхождения, в триациглицеридах которых преобладают насыщенные ЖК (пальмитиновая, стеариновая и др.), являются: масло какао, пальмоядровое и кокосовое масла. Препараты на основе жирных масел и высших ЖК среди лекарственных средств (ЛС) и ЛФ насчитывают более 120 наименований [2], которые можно разделить на 6 основных групп: ЛС и вспомогательные вещества, представляющие собой нативные жирные масла природного происхождения; ЛС, представляющие собой модифицированные природные жирные масла; ЛС, представляющие собой масляные экстракты (*Extractum oleosa*); ЛС, представляющие собой масляные растворы липофильных лекарственных субстанций (*Solutio oleosa*; *Solutio oleosa pro tnjecionibus*); ЛС, представляющие собой смеси высших ЖК или их эфиров; ЛС, представляющие собой смеси сложных омыляемых липидов.

Долгое время (с 1968 по 2015 гг.) в нашей стране контроль качества жирных РМ регламентировался требованиями общей фармакопейной статьи (ОФС) Государственной фармакопеи (ГФ) СССР X изд. [3]. Природные РМ широко используются в медицине, в том числе в ЛФ для инъекций. В связи с этим впервые для отечественной ГФ XIII изд. разработан гармонизированный проект ОФС «Масла жирные растительные», в который включены современные требования к качеству и безопасности жирных РМ. По ГФ РФ XIII изд. стандартизация РМ проводится по следующим показателям качества: «Описание»; «Подлинность»; «Растворимость»; «Плотность»; «Температура затвердевания» и/или «Температура плавления»; «Показатель преломления»; «рН» и/или «Кислотное число»; «Число омыления»; «Йодное число»; «Перекисное число», и/или «Индекс окисленности», и/или «Анизидиновое число»; «Неомыляемые вещества»; «Летучие вещества»; «Тяжелые металлы»; «Мыла»; «Объем содержимого упаковки» или «Извлекаемый объем»; «Микробиологическая чистота» или «Стерильность»; «Количественное определение». Определение подлинности и количественное определение жирных масел, обладающих фармакологическим действием, проводят по БАВ масла, обуславливающим его фармакологическую активность. Испытания на посторонние примеси, такие как тяжелые металлы и мыла, являются обязательными для всех жирных РМ. Испытания на наличие фосфорсодержащих и экзогенных веществ проводят в соответствии с требованиями ФС или нормативной документации (НД) на жирное РМ конкретного наименования. Показатель качества «Гидроксильное число» применим только к маслам типа касторового, содержащего в составе триациглицеридов остатки гидроксикислот. Фармакопей-

ными маслами являются: миндальное, масло какао, персиковое, касторовое, облепиховое, масло шиповника. В соответствии с руководством В. Швабе для получения гомеопатических масел употребляются масла вазелиновое, персиковое, абрикосовое, сливовое, оливковое, подсолнечное [2].

Масляные экстракты (МЭ) или медицинские масла – это извлечения из лекарственного растительного сырья, приготовленные с использованием растительных или минеральных масел [4, 5]. Фармакопейными МЭ являются: беленное масло, репейное масло, масло зверобоя [2]. МЭ фармацевтического назначения в настоящее время широко представлены на фармацевтическом рынке в качестве косметических и массажных масел. Для определения соответствия МЭ рекомендуется использовать нормативы СанПин 2.3.2.1078-01 [6] для БАД на основе РМ. Физико-химические показатели, а также показатели безопасности применения МЭ (тяжелые металлы, радионуклиды и пестициды), по которым оценивают их качество, недостаточно полно характеризуют их фармакологические свойства и не дают информации о качественном и количественном составе БАВ. При этом РМ, используемые в качестве экстрагентов для получения МЭ фармацевтического назначения, стандартизируются в соответствии с различными ГОСТами и ТУ [7-20]. ГОСТ 18848-73 [7] устанавливает применяемые в науке, технике и производстве термины и определения основных показателей качества РМ (таблица 1).

В то же время следует отметить, что многие понятия, характеризующие качество РМ, трактуются по-разному в соответствующих ГОСТах и ГФ XIII [1].

В связи с вышесказанным совершенно очевидно, что возникла необходимость обновления и совершенствования ФС и другой НД на отдельные виды применяемых в фармации масел, гармонизированных с ОФС «Масла жирные растительные» ГФ XIII изд.

Цель работы – анализ современного состояния, перспективы развития и совершенствования подходов к стандартизации и оценке качества РМ и МЭ фармацевтического назначения.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

Проведенный анализ НД позволил выявить основные физико-химические показатели качества РМ, используемых в качестве экстрагентов и вспомогательных веществ для приготовления МЭ и различных ЛФ (таблица 2), а также РМ, используемых в качестве ЛС и БАД (таблица 3).

Таблица 1.

Основные показатели качества РМ [7, 21–28]

№ п/п	Термин	Определение	ГОСТ/ОФС ГФ XIII
Органолептические показатели качества РМ			
1	Вкус РМ	–	ГОСТ 18848-73
2	Запах РМ	–	ГОСТ 5472-50
3	Прозрачность РМ	Показатель, характеризующий отсутствие в РМ при температуре 20 °С мути или взвешенных частиц, видимых невооруженным глазом	ГОСТ 5472-50
4	Цвет РМ	Показатель, характеризующий окраску слоя РМ, просматриваемого невооруженным глазом	ГОСТ 5472-50
Физико-химические показатели качества РМ			
1	Показатель преломления (ПП) РМ	–	ГОСТ 5482-90/ ОФС.1.2.1.0017.15
2	Плотность (П) РМ	–	ОФС.1.2.1.0014.15
3	Температура плавления РМ	Температура, при которой РМ, перейдя из твердого состояния в жидкое, становится полностью прозрачным	ОФС.1.2.1.0011.15
4	Температура застывания РМ	Наивысшая температура, при которой жидкое РМ способно перейти в твердое состояние	ОФС.1.2.1.0012.15
5	Температура вспышки РМ	Наименьшая температура, при которой выделяющиеся из РМ летучие вещества вспыхивают и мгновенно гаснут при соприкосновении с пламенем, поднесенным к поверхности масла. Примечание. Показатель устанавливает наличие в масле примеси органических растворителей, применяемых для извлечения масла экстракцией	ГОСТ 9287-59
6	Температура воспламенения РМ	Наименьшая температура, при которой загоревшиеся от соприкосновения с пламенем летучие вещества РМ продолжают гореть	ГОСТ 18848-73
7	Влага РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание воды в РМ	ГОСТ Р 50456 и ГОСТ 11812
8	Нежировые примеси РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание в РМ веществ, нерастворимых в петролейном эфире	ГОСТ 5481-89
9	Отстой РМ по объему	Показатель, характеризующий отношение объема, занимаемого выделенным в стандартных условиях осадком, к общему объему РМ	ГОСТ 5481-89
10	Общая зола РМ	Показатель, характеризующий отношение массы прокаленного минерального остатка к общей массе РМ, сожженного в стандартных условиях	ГОСТ 5474-66
11	Фосфорсодержащие вещества РМ	Показатель, характеризующий наличие в РМ фосфатидов, а также других веществ, содержащих фосфор, выраженный в пересчете на стеароолеоцитин или фосфорный ангидрид	ГОСТ Р 52676
12	Цветность РМ	Показатель, характеризующий интенсивность окраски РМ, выраженный в условных единицах	ГОСТ 5477-93
13	Цветность хлопкового масла	Цветность, определяемая сравнением цвета хлопкового масла с цветом набора стандартных стекол и выражаемая количеством единиц красного цвета при установленном количестве единиц желтого цвета	ГОСТ 5477-93
14	Цветное число (ЦЧ) РМ	Цветность, определяемая сравнением цвета РМ с цветом эталонных йодных растворов и выражаемая количеством миллиграммов йода	ГОСТ 5477-93
15	Кислотность РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание свободных ЖК и других титруемых щелочью веществ в РМ в пересчете на олеиновую кислоту	ГОСТ Р 50457-92
16	Кислотное число (КЧ) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ свободных ЖК и других титруемых щелочью веществ, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для их нейтрализации	ГОСТ Р 52110/ ОФС.1.2.3.0004.15

Контроль качества лекарственного растительного сырья

Продолжение таблицы 1

№ п/п	Термин	Определение	ГОСТ/ОФС ГФ XIII
17	Неомыляемые вещества РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание в РМ сопутствующих веществ, не реагирующих со щелочами и не разрушающихся при омылении масла	ГОСТ 5479-64
18	Содержание мыла в РМ	Показатель, характеризующий количественное содержание в рафинированном РМ следов солей ЖК в пересчете на олеиновокислый натрий. Примечание. Показатель характеризует эффективность отделения от масла омыленных ЖК после проведения щелочной нейтрализации и промывки	ГОСТ 5480-59
19	Число омыления (ЧО) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ свободных и связанных в виде триглицеридов ЖК, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для разрушения сложноэфирных связей и нейтрализации выделенных при этом свободных ЖК. Примечание. Показатель является характеристикой средней молекулярной массы смеси свободных ЖК, входящих в состав триглицеридов	ГОСТ 5478-90/ ОФС.1.2.3.0008.15
20	Число нейтрализации ЖК РМ	Условная величина, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для нейтрализации 1 г смеси ЖК, выделенных из РМ в стандартных условиях. Примечание. Показатель является характеристикой молекулярной массы смеси ЖК, входящих в состав триглицеридов; применяется для идентификации масел	ГОСТ 18848-73
21	Эфирное число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ связанных в виде триглицеридов ЖК, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для разрушения сложноэфирных связей и нейтрализации выделенных при этом ЖК	ОФС.1.2.3.0009.15
22	Гидроксильное число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ гидроксилсодержащих соединений, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для нейтрализации уксусной кислоты, выделяющейся после гидролиза избытка ацетилирующего реагента	ГОСТ 18848-73
23	Ацетильное число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 1 г РМ гидроксилсодержащих соединений, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для разрушения сложноэфирной связи между уксусной кислотой и гидроксилом и нейтрализации выделившейся при этом уксусной кислоты	ГОСТ 18848-73
24	Йодное число (ЙЧ) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 100 г РМ непредельных соединений, выраженная в граммах йода, эквивалентного состоящему из галогенов реагенту, присоединившемуся к маслу	ГОСТ 5475/ ОФС.1.2.3.0005.15
25	Родановое число (РЧ) РМ	Условная величина, характеризующая содержание в 100 г РМ непредельных соединений, выраженная в граммах йода, эквивалентного родану, присоединившемуся к маслу	ГОСТ 18848-73
26	Число Генера (ЧГ)	Условная величина, характеризующая процентное содержание в РМ нелетучих и нерастворимых в воде ЖК вместе с неомыляемыми веществами	ГОСТ 18848-73
27	Число Рейхерта – Мейселя (ЧРМ)	Условная величина, характеризующая содержание в 5 г РМ растворимых в воде летучих ЖК, выделенных в стандартных условиях из масла, выраженная в миллилитрах 0,1 М раствора едкого кали, необходимого для их нейтрализации	ГОСТ 18848-73
28	Число Поленске (ЧП)	Условная величина, характеризующая содержание в 5 г РМ нерастворимых в воде летучих ЖК, выделенных в стандартных условиях из масла, выраженная в миллилитрах 0,1 М раствора едкого кали, необходимого для их нейтрализации	ГОСТ 18848-73
29	Термопроба льняного масла	Показатель, характеризующий наличие в льняном масле соединений, способных выпасть в осадок при нагревании масла в интервале температур 250–300 °С	ГОСТ 5486-50
Дополнительные показатели качества РМ			
1	ЖК РМ	Алифатические карбоновые кислоты, входящие в состав РМ	ГОСТ 18848-73
2	ЖК-состав РМ	Процентная доля каждой из индивидуальных ЖК в общей смеси ЖК, выделенных из РМ	ГОСТ 31663

№ п/п	Термин	Определение	ГОСТ/ОФС ГФ XIII
3	Трансизомеры ЖК	–	ГОСТ 31754-2012
4	Массовая доля эруковой кислоты	–	ГОСТ 30418
5	Влага и летучие вещества РМ	Показатель, характеризующий суммарное содержание в РМ воды и других веществ, способных испаряться при 100–105 °С	ГОСТ Р 50456 и ГОСТ 11812/ОФС.1.5.3.0007.15
6	Степень окисленности РМ	Количественное содержание в РМ кислородсодержащих группировок, образовавшихся в результате окисления ЖК, а также их сополимеризации и конденсации. Примечание. К числу кислородсодержащих групп, характеризующих окисленное РМ, относятся эпоксигруппы, гидроокиси, альдегиды и кетоны, перекиси и гидроперекиси, а также оксиполимеры	–
7	Тетрабромное число РМ	Условная величина, выражаемая в процентах тетрабромстеариновой кислоты, полученной из смеси ЖК, выделенных из РМ и подвергнутых бромированию. Примечание. Показатель характеризует наличие в РМ линолевой кислоты и ее изомеров. При отсутствии линолевой кислоты определяются только ее изомеры	–
8	Гексабромное число РМ	Условная величина, выражаемая в процентах гексабромстеариновой кислоты, полученной из смеси ЖК, выделенных из РМ и подвергнутых бромированию. Примечание. Показатель характеризует наличие в РМ линолевой кислоты, способной образовывать при бромировании в стандартных условиях гексабромстеариновую кислоту	–
9	Полибромное число РМ	Условная величина, выражаемая в процентах полибромидов, полученных из смеси ЖК, выделенных из РМ и подвергнутых бромированию. Примечание. Показатель характеризует наличие в РМ высоконепредельных ЖК, имеющих в молекуле более трех двойных связей	–
10	Перекисное число (ПЧ) РМ	Условная величина, выражаемая количеством йода в процентах, эквивалентным йодистоводородной кислоте, прореагировавшей в стандартных условиях с перекисной или гидроперекисной группами РМ	ГОСТ Р 51487/ОФС.1.2.3.0007.15
11	Содержание эпоксидного кислорода в РМ	Процентная доля кислорода, эквивалентного бромистому водороду, прореагировавшему в стандартных условиях с моно- и диэпоксидами ЖК окисленного РМ	–
12	Карбонильное число РМ	Условная величина, определяемая по цвету избытка непрореагировавшего реагента или продуктов взаимодействия, образовавшихся в стандартных условиях при действии на альдегидные группы РМ специфическими реагентами, выражаемая в условных процентах. Примечание. В качестве таких реагентов применяют бензин, гидроксил-амин, 2,4-динитрофенилгидразин, флюороглюцин	–
13	Бензидиновое число (АЧ) РМ	Карбонильное число, определяемое по цвету продуктов взаимодействия альдегидных групп с бензидинацетатом, выражаемое в миллиграммах-процентах коричневого альдегида	ГОСТ Р 52465/ОФС.1.2.3.0003.15
14	Тиобарбитуровое число РМ	Условная величина, характеризующая содержание в РМ диальдегидов, определяемая по цвету продуктов взаимодействия альдегидных групп с 2-тиобарбитуровой кислотой, выражаемая в миллиграммах малондиальдегида на 1000 г РМ	–
15	Диеновое число РМ	Условная величина, выражаемая количеством диенофильного реагента, пересчитанным на эквивалентное количество йода, которое способно присоединиться в установленных условиях к сопряженным этиленовым связям в 100 г жира. Примечание. Показатель дает возможность определять процентное содержание ЖК с сопряженными этиленовыми связями	–
16	Массовая доля витаминов А и Е	–	ГОСТ 30417-98

Таблица 2

Физико-химические свойства РМ, используемых в качестве экстрагентов и вспомогательных веществ для приготовления МЭ и различных ЛФ [8–20]

Тип масла	Срок годности	Числовые показатели										Цвет	п	пп	ТЗ	Подлинность
		цч	кч	пч	йч	чо	ач	рч	чг	чрм	чп					
Масло подсолнечное (<i>Oleum Helumthi</i>)																
Полувысыхающее	6 мес.	Не более 10	Не более 3,0	Не более 10,0	119–144	186–194	Не более 3,0	74–83	95	0,3–1,0	0,3–1,8	Золотисто-желтый	0,924	1,4680	От –16 до –19	ЖК-состав
Масло хлопковое (<i>Oleum Gossypii</i>)																
Полувысыхающее	3–6 мес.	Не более 10	Не более 0,2	–	101–116	188–199	–	62–67	95–96	0,2–1,0	0,2–0,7	От красно-бурого до черного	0,920	1,4634	От –1 до –6	–
Масло соевое (<i>Oleum Glycinae</i>)																
Полувысыхающее	4–12 мес.	–	Не более 4,0	Не более 10,0	114–139	189–195	Не более 3,0	83,7	94–96	–	–	От светло-желтого до темно-желтого	0,928	1,4678	От –8 до –18	ЖК-состав
Масло кунжутное (<i>Oleum Sesami</i>)																
Полувысыхающее	2–5 лет	Не более 15	Не более 0,4	–	103–117	186–195	–	75–77	95–96	0,1–0,5	0,2–0,6	От желтого до коричневого	0,922	1,4708	–7	–
Масло кукурузное (<i>Oleum Maydis</i>)																
Полувысыхающее	12–18 мес.	Не более 18	Не более 5,0	Не более 10,0	111–133	187–190	–	77–78	92–96	0,3–2,5	–	Золотисто-желтый	0,924	1,4745	От –10 до –15	ЖК-состав
Оливковое масло (<i>Oleum Olivarum</i>)																
Невысыхающее	12–24 мес.	–	Не более 2,5	–	75–88	187–196	–	76,5	95–96	0,1–0,8	–	Золотисто-желтый	0,917	1,4635	От –2 до –6	–
Миндальное масло (<i>Oleum Amygdalarum</i>)																
Невысыхающее	12–18 мес.	–	Не более 2,5	–	93–102	190–195	–	82–85	96–97	0,2–0,5	0,2–1,0	Желтый	0,917	1,4672	От –10 до –21	Качественная реакция

Продолжение таблицы 2

Тип масла	Срок годности	Числовые показатели									Цвет	п	пп	ТЗ	Подлин-ность
		цч	кч	пч	йч	чо	ач	рч	чг	чрм					
Персиковое масло (<i>Oleum Persicorum</i>)															
Невысыхающее	24 мес.	–	Не более 2,5	–	96–103	187–195	–	–	94	До 0,1	0,3–0,8	0,920	1,4645	От –20 до –23	Качест-венная реакция
Абрикосовое масло (<i>Oleum Armeniacae</i>)															
Невысыхающее	–	–	–	–	96–109	188–198	–	–	95–96	0,1	0,3	0,919	1,4646	–20	–
Рапсовое масло (<i>Oleum Rapeseed</i>)															
Невысыхающее	4-6 мес.	–	Не более 0,4	Не более 10,0	–	–	Не более 3,0	77,8	94-96	0,1-0,8	–	0,914	1,4650	От -4 до -10	ЖК-состав
Пальмовое масло (<i>Oleum Palmi</i>)															
Невысыхающее	–	–	Не более 0,2	Не более 0,9	50–55	–	–	–	94–98	0,4–1,9	0,4–0,6	0,923	1,4545	31–41	ЖК-состав
Кокосовое масло (<i>Oleum Cocosut</i>)															
Невысыхающее	24 мес.	–	Не более 15,0	–	Не более 12,0	254–267	–	8,2–9,6	86–92	4–7	8,5–11	0,925	1,4497	19–26	–
Какао масло (<i>Butyrum Cacao</i>)															
Невысыхающее	–	–	Не более 2,25	–	32–38	–192–196	–	32–35	95–96	0,1–04	0,5–1,0	0,960	1,4569	21,5-27	–

Таблица 3.

Физико-химические свойства РМ, используемых в качестве ЛС и БАД [8-20]

Тип масла	Срок годности	Числовые показатели												Цвет	ТЗ	Подлинность
		ЦЧ	КЧ	ПЧ	ЙЧ	ЧО	АЧ	ПП	П	РЧ	ЧГ	ЧРМ	ЧП			
Облепиховое масло (<i>Oleum Hipporhaes</i>)																
Невысыхающее	18 мес.	–	Не более 7,5	–	–	–	–	1,468–1,476	0,915–0,922	–	–	0,2–0,5	–	От желтого до оранжево-коричневого	–20	Сумма каротиноидов и ЖК-состав
Касторовое масло (<i>Oleum Ricini</i>)																
Невысыхающее	2–5 лет	–	Не более 2,0	–	82–91	176–186	–	1,475–1,480	0,948–0,968	81,6	96,1	0,2–0,3	–	От бесцветного до темного желтого	–10	Качественная реакция
Масло шиповника (<i>Oleum Rosae</i>)																
Невысыхающее	24 мес.	–	Не более 10,0	Не более 15,0	–	–	–	1,475–1,490	0,915–0,940	–	–	–	–	От желто-оранжевого до красно-коричневого	–	Сумма каротиноидов и ЖК-состав
Рыжиковое масло (<i>Oleum Camellinae sativae</i>)																
Высыхающее	–	–	Не более 0,7	–	133–155	181–190	–	1,4748–1,4782	0,920–0,930	90–100	94–95	–	–	Золотисто-желтый	От –15 до –18	–
Льняное масло (<i>Oleum Lini</i>)																
Высыхающее	6–12 мес.	Не более 60	Не более 1,0	–	Не менее 175	184–195	–	1,4800–1,4870	0,935	–	95	0,5	До 0,5	От желтого до бурого	От –18 до –27	–

Числовые показатели

Величина КЧ по ГОСТ и ОФС ГФ XIII традиционно определяется методами алкалиметрического или потенциометрического титрования [27–29]. В последнее время также разработаны и другие способы:

– способ определения КЧ масел и жиров, основанный на использовании 10–30-кратного избытка триэтиламина в спиртоэфирной смеси и определении КЧ исследуемого продукта с построением градуировочного графика [29];

– способ определения КЧ РМ, предусматривающий смешение навески отобранной пробы исследуемого РМ со спиртоэфирной смесью, предварительно нейтрализованной по фенолфталеину, измерение величины рН полученной смеси и определение КЧ исследуемого масла с использованием модельных растворов [27];

– способ определения КЧ РМ, предусматривающий смешивание навески отобранной пробы с органическим растворителем, в который сначала вводят не более 0,5 см³ стандартного раствора олеиновой кислоты с концентрацией от 0,03 до 0,08 М, измеряют величину рН полученной смеси. Значение КЧ исследуемого РМ определяют по известной формуле [29].

ЙЧ и ПП, как правило, характеризуют степень ненасыщенности РМ, а также способность масел к высыханию – образованию при окислении тонкой прозрачной смолоподобной эластичной пленки (линоксин), нерастворимой в органических растворителях [30]. Классификация РМ по способности к высыханию приведена в таблице 4. Для медицины представляют интерес масла невысыхающие, поскольку они используются для парентерального введения ЛС. Высыхающие и полувывсыхающие масла могут быть использованы для приготовления мазевых и суппозиторных основ. ЙЧ определяют методом йодхлориметрического или йодбромометрического титрования [31].

Таблица 4.

Взаимосвязь ЙЧ и способности масел к высыханию

№ п/п	Способность к высыханию	ЙЧ
1	Невысыхающие масла	менее 100
2	Полувывсыхающие масла	100–140
3	Высыхающие масла	140 и более

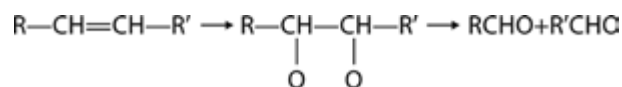
Для одновременного экспресс-определения показателей качества и безопасности РМ (КЧ, ПЧ, АЧ, ЙЧ, цветность, массовые доли фосфорсодержащих веществ, эруковой кислоты, трансизомеров ЖК, влаги и летучих веществ, нежировых примесей) разработан современный физико-химический метод, основанный на регистрации поглощения анализируемых проб в ближней ИК-области (12800–3600 см⁻¹) с последующим математическим расчетом значений определяемых

показателей по градуировочным образцам, представляющим собой образцы РМ с известными значениями исследуемых величин [28].

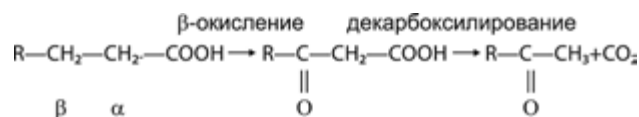
Окисленность масел

Окисление – одна из главных причин порчи масел и жиров. Ненасыщенные ЖК, легко окисляясь по двойным связям, превращаются в перекисные и затем гидроперекисные соединения [30]. У масел, подвергшихся окислительному прогорканию, ухудшаются органолептические свойства (вкус и запах). Кроме того, многие продукты окисления могут вызывать отравления и различные заболевания [30]. Известно, что продукты окисления масел и жиров делятся на три группы. Первичные продукты окисления: гидроперекиси, представляющие особую опасность как канцерогены-прооксиданты. Вторичные продукты окисления: карбонильные соединения, эпокиси- и многоатомные спирты. Третичные продукты окисления: карбоновые кислоты и альдегиды низкомолекулярной группы. Различают два типа прогоркания: гидролитическое и окислительное. Гидролитическое прогоркание происходит под действием липаз, чему способствует влага, свет, доступ воздуха, тепло. При этом образуются свободные ЖК. Окислительное прогоркание происходит после гидролитического, но может быть и без него. Различают три вида окислительного прогоркания [32]:

а) неферментативное, связанное с окислением ненасыщенных ЖК кислородом воздуха; при этом кислород присоединяется по месту двойных связей, образуя пероксиды; при разложении пероксидов ЖК получают альдегиды, придающие маслу неприятный запах и вкус:



б) ферментативное (кетонное) происходит часто при участии микроорганизмов и характерно для жирных РМ, в состав которых входят C₆–C₁₂-кислоты:



в) ферментативное, с участием липоксидаз и липоксигеназ; при этом образуются гидроперексиды, способные окислять БАВ, содержащиеся в масле, например токоферолы и каротиноиды.

Для определения степени и характера изменений липидов в отечественной и зарубежной практике научных исследований используют следующие подходы:

– определение содержания исходных компонентов субстрата (например, свободных ЖК (КЧ), сопряженных диенов, поглощенного кислорода, об-

разовавшихся свободных радикалов, определение жирнокислотного и фракционного состава липидов];

– определение первичных продуктов окисления масла (например, пероксидов – ПЧ) [33]; определение содержания вторичных продуктов окисления жира, таких как малоновый диальдегид, карбонильные соединения и другие вещества (тест с 2-тиобарбитуровой кислотой, альдегидное число, АЧ, тест Kreis, количество карбонильных соединений) [34, 35]; оценка совокупных изменений липидов при тотальном окислении (totox-показатель); косвенные методы, которые включают определение структуры, спектральных характеристик, функциональных свойств и цвета исследуемого объекта.

УФ-спектр масел позволяет рассчитать очень важный параметр – индекс окисленности (ИО), который характеризует качество липидного комплекса масла. Данный параметр отражает накопление суммы продуктов перекисного окисления ЖК остатков липидов [36–40]. В настоящее время в НД [36–40] нередко расчет ИО осуществляется разными методами. В одном случае этот параметр рассчитывают как отношение абсорбции раствора фитопрепарата в органическом растворителе (этаноле) при $\lambda=232$ нм (поглощение конъюгатов гидропероксидов) к абсорбции при $\lambda=206$ – 210 нм (поглощение –С–С–связей образца) [40]. ИО, рассчитанный по этой методике, показывает содержания первичных продуктов окисления – конъюгированных гидропероксидов в образце. В другом случае, по данным автора [38], данный показатель рассматривают как отношение абсорбции раствора фитопрепарата в органическом растворителе (этаноле) при $\lambda=233$ нм к абсорбции при $\lambda=215$ нм. Британская Фармакопея рекомендует рассчитывать соотношение A_{232}/A_{270} , т.е. отношение абсорбции первичных и

вторичных продуктов окисления [40]. ИО в настоящее время рекомендован ОФС ГФ XIII для оценки качества РМ фармацевтического назначения [1].

Определение БАВ

Комплекс БАВ РМ, среди которых важнейшими являются каротиноиды, фосфолипиды, токоферолы, биофлаваноиды, полиненасыщенные ЖК, фитостерины и сквален, определяют биологическую ценность масла. Физико-химические показатели, по которым оценивают качество РМ, недостаточно полно характеризуют их фармакологические свойства и не дают информации о качественном и количественном составе БАВ РМ. До недавнего времени нормативная документация (НД) не нормировала содержание основных БАВ РМ [41]. Однако именно они обуславливают их терапевтическую эффективность и безопасность. В ОФС ГФ XIII «Масла жирные растительные» появился раздел «Количественное определение». Различные ГОСТы содержат нормативы только на состав ЖК в РМ [8–20].

Качественная идентификация основных групп БАВ РМ описана в литературе [42] и представлена в таблице 5.

С помощью качественных реакций можно проводить определение не только жирорастворимых БАВ в РМ, но и устанавливать вид РМ (таблица 6).

С применением метода дифференциальной спектрофотометрии исследованы спектральные характеристики РМ, а также изучено влияние на них растворителей [43]. В результате выявлены характеристические полосы поглощения, характерные для РМ и МЭ в органических растворителях, обусловленные присутствием в них различных групп БАВ. Выявленные полосы поглощения при 320–360 нм могут

Таблица 5.

Качественные реакции на основные группы БАВ в РМ и МЭ

№ п/п	БАВ	Реактивы и условия реакции	Аналитический эффект
1	Токоферолы	К 0,5 мл РМ добавляют 0,5 мл конц. азотной кислоты	В течение 1 мин на границе раздела фаз масло – кислота появляется широкое кольцо коричнево-красного цвета. При взбалтывании все масло окрашивается в оранжево-красный цвет
2	Витамины группы К (в присутствии витаминов группы А и Е)	К 1-2 мл РМ добавляют несколько кристалликов резорцина и 3-4 капли конц. серной кислоты	Появляется темное красно-коричневое окрашивание (для светлых масел) или темно-синее (для темноокрашенных масел)
3	Каротиноиды	К 0,5 мл РМ прибавляют 1-2 капли конц. серной кислоты	Появляется темно-синее окрашивание
		К 0,5 мл РМ добавляют 1,0 мл конц. азотной кислоты	При перемешивании в течение 1 мин появляется темно-зеленое окрашивание, переходящее в темно-вишневое при стоянии в течение 10 мин
4	Фосфолипиды, содержащие аминогруппы	К 1-2 мл РМ в фарфоровую чашку добавляют 5 мл ацетона, несколько кристалликов нингидрина и выпаривают на кипящей водяной бане до сухого остатка	Появляется окаемка красно-фиолетового цвета

соответствовать фенольным соединениям; максимумы при 420, 440–456, 472–490 нм близки к спектрам каротиноидов и ЖК; полосы в диапазоне 539–542 нм характерны для антоцианов; 653–672 нм – для хлорофилловых соединений [43].

Таблица 6.

Качественные реакции для установления вида РМ [3]

№ п/п	Вид РМ	Реактивы и условия реакции	Аналитический эффект
1	Миндальное масло	5 мл РМ взбалтывают с 1 мл смеси равных объемов воды, конц. серной кислоты и дымящей азотной кислоты	Получается масса слабо-желтого цвета
2	Абрикосовое масло		Получается масса красного цвета
3	Персиковое масло		
4	Кунжутное масло		Получается масса бурого цвета
5	Хлопковое масло		

Метод ИКС можно успешно использовать при изучении химической структуры не только индивидуальных веществ, но и сложных многокомпонентных смесей, таких как РМ. Безусловно, БАВ РМ вступают во взаимодействие между собой, формируя ассоциаты, конгломераты или др. образования. Актуальность изучаемого вопроса обусловлена недостатком информации в литературе о характере связей между компонентами РМ. К одному из видов таких «ассоциативных взаимодействий» принадлежит водородная связь. Важным критерием, подтверждающим образование данной связи, является появление значительных смещений максимумов поглощения в ИК-спектрах изучаемых объектов [44]. На рисунке 1 в качестве примера представлен ИК-спектр РМ плодов шиповника.

В ИК-спектрах наибольшей интенсивностью характеризуются полосы поглощения различных триглицеридов РМ, имеющих в своем составе функциональные группы, способные поглощать электромагнитное

излучение света инфракрасного диапазона длин волн [30]. Изучение структуры РМ и МЭ методом ИКС показало, что они имеют общие характеристические полосы поглощения при 2859–2855; 1379–1375; 1466; 729–727 см^{-1} , обусловленные валентными и деформационными колебаниями групп CH , CH_2 и CH_3 . В диапазонах частот 1682–1653 и 3013–3011 см^{-1} полосы поглощения соответствуют $\text{C}=\text{C}$ -группам; полосы поглощения при 1749–1746 см^{-1} соответствуют $\text{C}=\text{O}$ -связи в сложноэфирной группировке. Кроме того, наблюдаются полосы поглощения в интервале частот 1244–1240 см^{-1} , обусловленные наличием групп $\text{P}=\text{O}$, а также полосы при 1171–1165 и 1136–1103 см^{-1} , связанные с присутствием протонированной $\text{P}-\text{OH}$ и депротонированной $\text{P}-\text{O}^-$ фосфатных групп в структуре фосфолипидов, присутствующих в маслах [45]. Отнесение общих характеристических частот поглощения в ИК-спектрах РМ представлено в таблице 7.

На ИК-спектрах РМ, кроме общих характеристических полос, обнаруживаются полосы поглощения, специфические для определенного вида масла, которые можно использовать в качестве критериев при оценке их качества. По наличию полос поглощения в диапазоне частот 1171–1165; 3505–3476 см^{-1} [30], которые обусловлены присутствием токоферолов в маслах, возможно оценивать качество РМ и МЭ.

Анализ ЖК триацилглицеролов. Поскольку более 90% состава липидных комплексов представлено триацилглицеридами, изучение их качественного состава и количественное определение в РМ является традиционным направлением для исследователей жиров и жироподобных веществ. Для разделения ЖК, а также их эфиров и амидов в пределах всего класса липидов наиболее эффективными из доступных сейчас методов являются следующие: ТСХ; ГЖХ на жидких полярных фазах; ВЭЖХ на колонках с обращенной фазой. ЖК в основном разделяют методом ГЖХ на жидких полярных фазах после их превращения в метиловые или бутиловые эфиры [46]. При исследовании ЖК-состава особенное внимание уделяют установлению присутствия трансизомеров ЖК. Цис- и трансизомеры можно успешно разделить с помощью ГЖХ, используя определенные неподвижные фазы. Так, метиловые эфиры олеиновой и элаидиновой кислот можно успешно разделить на достаточно длинных колонках (в м) с 15% OV-275. Для идентификации полиненасыщенных ЖК авторы [46] рекомендуют использовать простой и удобный метод каталитического гидрирования. Сравнивают ГЖХ-хроматограммы до и после гидрирования (исчезают пики, соответствующие ПНЖК, а увеличиваются пики, соответствующие насыщенным ЖК с тем же числом атомов углерода). Предложена усовершенствованная методика определения облепихового масла в препаратах «Олазоль», «Статизоль», «Облекол» и др. методом ГЖХ. Содержание облепихового масла в них составляет всего от 1% до 3%, и судить по сумме каротиноидов о его подлинности и количестве представляется маловероятным. Поэтому наличие облепихового

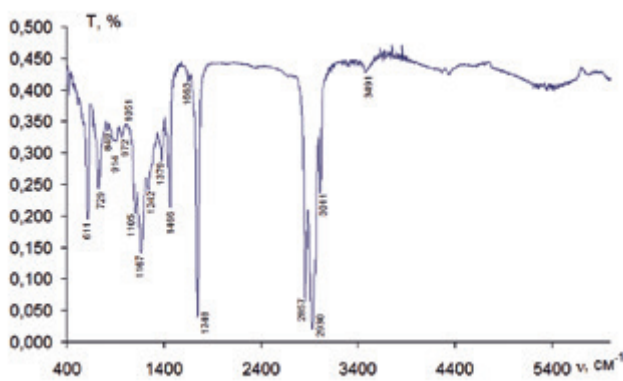


Рисунок 1. ИК-спектр масла шиповника

Таблица 7.

Отнесение общих характеристических частот поглощения в ИК-спектрах РМ

ν , см ⁻¹ на спектре	Интенсивность	Диапазон частот соответствующей функциональной группы [30]	Тип колебаний и соответствующий структурный фрагмент	Функциональная группа
2859–2855	Сильная	2853±10	Валентное, CH	–CH ₂
1379–1375	Средняя	1375±10	Деформационное симметрическое, CH	–CH ₃
1466	Средняя	1450±20	Деформационное ассимметрическое, CH	–CH ₃
731–725	Средняя	750–720	(–CH ₂) ₄ , скелетные	–CH ₂
1682–1647	Переменная	1680–1620	Валентное, C=C, сопряженное	–C=C–
3013–3009	Переменная	3040–3010	Валентное, CH	–CH=CH– (транс-)
1749–1746	Сильная	1750–1740	Валентное, C=O	–COOH
	Сильная	1750–1730	Валентное, C=O, насыщенная	RCOOR RCOR
2936–2928	Очень сильная	2940–2915	Валентное, ассимметрическое, –CH ₂ –	–CH ₂
3505–3472	Слабая	3600–3200	–OH в межмолекулярных H-связях	–OH
1105–1101	Средняя	1116–1105	Валентные скелетные	–CH ₂ –
849–822	Слабая	840–800	Валентное, CH	–C=C– (цис-)
1244–1240	Сильная	1300–1200	Валентное, свободная группа	Фосфаты
	Сильная	1240–1180	–P=O	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{O}-\text{P}(\text{O})-\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array}$
1171–1165	Очень сильная	1200–1150	Валентное, связанная группа –P=O	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{O}-\text{P}(\text{O})-\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array}$
974–968	Слабая	980–965	Неплоские, деформационные, –C–H	–C=C– (транс-)
918–912	Очень слабая	918	Эфиры	–C–O–C–
729–725	Сильная	745–705	Деформационное, –C–H	C–H

масла в препаратах устанавливается путем определения содержания пальмитиновой кислоты с введением внутреннего стандарта (миристиновой кислоты). В отличие от традиционных методов абсолютное количество облепихового масла рассчитывается по отношению к сумме всех ЖК с введением соответствующих калибровочных коэффициентов. Количественное отношение олеиновой кислоты к пальмитиновой должно быть не менее 0,9, что характеризует достоверное содержание облепихового масла. Сводные данные по составу ЖК в различных РМ фармацевтического назначения обобщены в таблице 8.

Таблица 8.

Состав ЖК различных РМ фармацевтического назначения

№ п/п	РМ	Основной тип жиров	Содержание и состав ЖК, %		
			насыщенные	мононенасыщенные	ПНЖК
1	Оливковое	Мононенасыщенные	15–17	62–66	22–28
2	Рапсовое		2–6	28–54	22–32
3	Хлопковое	Полиненасыщенные	22–25	30–35	40–48
4	Пальмовое	Насыщенные	44–57	40–45	До 9
5	Кокосовое		До 90	5–10	1–2
6	Кукурузное	Полиненасыщенные	10–14	30–49	48–56
7	Арахисовое	Мононенасыщенные	13–22	50–63	13–33
8	Подсолнечное	Полиненасыщенные	6–12	24–40	46–63
9	Соевое		12–14	23–29	54–63
10	Кунжутное		10–16	35–48	37–48
11	Льняное		9–11	13–29	59–91

Триглицеридный состав РМ. Для получения данных о триглицеридном составе РМ все чаще применяют обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ с рефрактометрическим и УФ-детекторами [47–50]. Поскольку обнаружение по поглощению в УФ-области спектра не позволяет уловить малые количества ЖК, были разработаны методы получения производных с сильным поглощением в УФ-области. Показано, что метод ВЭЖХ может быть использован также для количественного определения суммы триглицеридов в РМ различных типов [47–50]. В работе [47] описано, что применение поливольного режима детектора позволяет контролировать не только триглицериды, но и при 254–270 нм жирорастворимые витамины, антиоксиданты и другие соединения (рисунок 2).

Методами ВЭЖХ и хромато-масс-спектрометрии получены хроматографические профили ЖК, токофе-

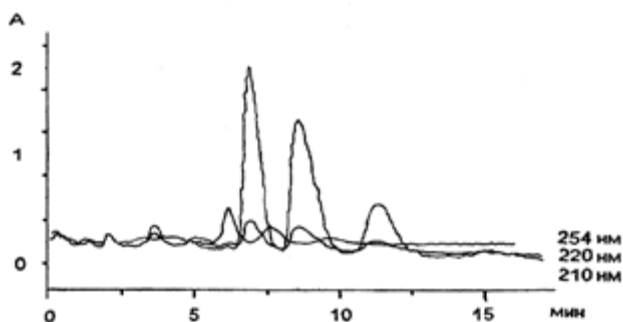


Рисунок 2. ВЭЖХ-хроматограмма облепихового масла, зарегистрированная при трех длинах волн

ролов, стеринов и монотерпенов, определены основные показатели, характеризующие качество, пищевую и биологическую ценности РМ, обогащенных БАВ.

Для исследования ЖК возможно также использование БХ и ТСХ. Так, например, для разделения ЖК масла семян бузины черной, снежной ягоды, жимолости монетолистной и абелии щитковидной была использована техника ТСХ на силикагеле в системе петролейный эфир – диэтиловый эфир – ледяная уксусная кислота (9:1:0,1) [46].

В Европейской Фармакопее (ЕФ) [51–53] изложен простой, доступный и экспрессный способ идентификации РМ методом ТСХ, который позволяет однозначно определить вид масла. Неподвижной фазой служит модифицированный C_{18} силикагель для ВЭТСХ. Проводят двукратное элюирование сначала первой подвижной фазой – диэтиловым эфиром (высота пробега – 0,5 см), а затем двукратное элюирование второй подвижной фазой (высота пробега – 8 см) – смесью метиленхлорид : уксусная кислота : ацетон (20:40:50). Объем пробы – 1 мкл раствора 20 мг масла в 3 мл метиленхлорида. Проявитель – 10% спиртовый раствор фосфорномолибденовой кислоты (ФМК). Типичный вид хроматограмм РМ приведен на рисунке 3.

В отечественной литературе также описана подобная методика идентификации РМ и МЭ методом ТСХ [54, 55]. Сравнительная характеристика методик представлена в таблице 9.

При анализе отечественной литературы была обнаружена работа [56], в которой авторы также предлагают идентифицировать и прогнозировать свойства РМ с применением хроматографических профилей ЖК, токоферолов и стеринов.

ЖК, входящие в состав триацилглицеринов, могут быть определены с использованием ферментативных методов. Так, А.У. Умаровым был предложен метод ферментативного гидролиза жиров с вариантом расчета типа триацилглицеролов, позволяющим определить их глицеридный состав в соответствии с характером ЖК-состава масел для представителей семейств

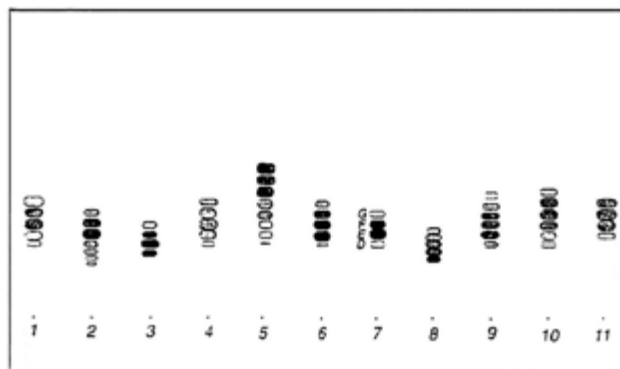


Рисунок 3. Типичный вид хроматограммы для идентификации жирных РМ (1. Кукурузное масло; 2. Арахисовое масло; 3. Масло какао; 4. Соевое масло; 5. Льняное масло; 6. Миндальное масло; 7. Оливковое масло; 8. Рапсовое масло; 9. Рапсовое масло (без эруковой кислоты); 10. Соевое масло; 11. Подсолнечное масло)

зонтичных, мальвовых, розоцветных, крестоцветных, жимолостных, яснотковых, гранатовых [46].

Таблица 9.

Сравнительная характеристика методик идентификации РМ и МЭ методом хроматографии в тонком слое сорбента

№ п/п	Показатель	Отечественная методика [54]	Методика ЕФ 6.0 [51-53]
1	Время анализа	30–40 мин	60–70 мин
2	Пробоподготовка	Раствор масла в хлороформе 0,1 г/мл	Раствор масла в метиленхлориде 0,007 г/мл
3	Тип пластин для ТСХ	Силикагелевые пластинки марки Sorbfil 10×15 см с полимерной подложкой	Пластинки с модифицированным C_{18} силикагелем для ВЭТСХ 10×10 см
4	Подвижная фаза	Гексан – этанол (10:0,25)	Диэтиловый эфир; Метиленхлорид – уксусная кислота – ацетон (20:40:50)
5	Высота пробега	12–13 см	0,5 см; 8 см
6	Проявитель	10% спиртовый раствор ФМК	

Анализ каротиноидов в РМ. В составе липидных комплексов растительных объектов обнаружено свыше 80 каротиноидов. К ним относятся β -каротин, его природные (структурные и пространственные) изомеры, алифатический изомер каротина – ликопин, а также значительное количество каротиноидов, являющихся окси- и оксипроизводными структурных изомеров β -каротина.

Суммарное содержание каротиноидов в РМ в пересчете на β -каротин, как правило, является единственным критерием стандартизации РМ по содержанию БАВ [19–20,57] и определяется с помощью спект-

рофотометрии в видимой области. Метод включен в ФС на масло шиповника, облепиховое масло и различные ЛС на его основе. Однако данный подход не дает представления о присутствии отдельных компонентов в сумме.

Методика разделения каротиноидов колоночным методом разработана еще М.С. Цветом, и за все последующие годы усовершенствованы лишь ее детали. Каротины лучше разделять на сорбентах с более высокой полярностью, а органические растворители, обладающие высокой элюирующей способностью (этанол, метанол), хорошо элюируют с адсорбента ксантофиллы. Используются также смеси полярных и неполярных растворителей. При этом даже незначительные количества полярных растворителей в такой смеси резко повышают ее элюирующую способность. В случае использования хроматографии со ступенчатым элюированием хроматограмма последовательно промывается растворителями повышающейся полярности или системой растворителей, например петролейный эфир – ацетон (99:1; 98:2; 95:5; 90:10 и т.д.). При этом добиваются поочередного элюирования каротиноидов или их смесей в приемнике. Колоночный метод хроматографирования позволяет разделить большие количества каротиноидов на группы и индивидуальные вещества, подготовить экстракты для анализа другими методами, например методом ТСХ [46].

Значительное количество публикаций посвящено использованию ТСХ в анализе веществ каротиноидной природы. Разделяя одни и те же каротиноиды методом ТСХ, исследователи часто добиваются хороших результатов, используя различные адсорбенты и системы растворителей. С применением в качестве элюента малополярной системы гексан – бензол (19:1) проведено разделение каротиноидов в облепиховом масле и масле шиповника [58].

Большие возможности в области идентификации и количественного определения каротиноидов в РМ открываются при использовании ВЭЖХ. Метод ВЭЖХ широко применяется для разделения и количественного определения α - и β -каротинов, ликопина, криптоксантина, лютеина, зеаксантина. Наряду с ВЭЖХ широкое применение нашли также ГЖХ и газовая хроматография / масс-спектрометрия (ГХ/МС) – уникальные методы анализа каротиноидов и ретинолов. Они позволяют не только быстро идентифицировать вещества, но и определять их молекулярную массу, получать информацию, касающуюся стереохимии первона- чального каротиноида [46].

Анализ стеринов РМ. К неомыляемой фракции жирных РМ также относятся высокомолекулярные циклические спирты, имеющие стероидный скелет – стерины. В действующей НД на жирные масла не регламентируется компонентный состав стериновой фракции. Стерины с трудом поддаются разделению, что, в частности, связано с высоким содержи-

ем гомологов в данном классе соединений. Методикам хроматографического анализа стеринов в маслах посвящен ряд работ. В зарубежной печати опубликованы работы обзорного характера, посвященные анализу растительных стеринов методом ГХ. В ГФ Украины 1 изд. и ЕФ [59] присутствует ОФС «Стерины в жирных маслах», которая описывает методику определения компонентного состава стериновой фракции в различных РМ и количественного содержания стеринов методом ГХ. Методика основана на получении неомыляемого остатка анализируемого масла, далее из неомыляемого остатка методом ТСХ выделяют стериновую фракцию, компонентный состав которой определяют методом ГХ после обработки силилирующим реактивом [59].

Для разделения сложных смесей растительных стеринов часто используются методики ВЭЖХ. Высокой разрешающей способностью обладает адсорбционная хроматография на силикагеле, проводимая в режиме изократического, градиентного или рециклического элюирования [46].

Анализ токоферолов РМ. Эти вещества экстрагируют каким-либо органическим растворителем (гексаном, диэтиловым эфиром, дихлорметаном), а затем путем гидролитической обработки сырого экстракта получают содержащую витамин Е фракцию неомыляемых липидов, которые можно сравнительно легко разделить, используя разнообразные хроматографические методы. ТСХ нашла широкое применение как метод определения витамина Е во многих образцах [60–62]. Определение витамина А и Е в РМ осуществляют с применением аттестованной методики ГОСТ 30417 [63], в соответствии с которой выделяют из масел неомыляемую фракцию БАВ с последующим разделением витаминов в тонком слое сорбента, их элюированием и количественным анализом на фотоэлектроколориметре после добавления цветореагентов – реактива Эммера – Ангеля и хлорида сурьмы (III) для токоферолов и ретинола соответственно. Разработаны многочисленные хроматографические методики, позволяющие проводить определение жирорастворимых витаминов без процедуры омыления [60, 61].

С целью количественной оценки содержания токоферолов в растительных объектах большинство авторов используют ГЖХ. Наиболее приемлемые результаты по разделению позиционных изомеров β - и γ -токоферолов были получены с применением ВЭЖХ [46].

Анализ фосфолипидов (ФЛ). Липиды семян, как известно, подразделяются на несколько классов, таких как нейтральные липиды, ФЛ, гликолипиды. Для ТСХ основных типов ФЛ РМ в качестве растворителей наиболее широко используют смеси метанола, хлороформа и воды с добавлением уксусной кислоты или без последней и раствора аммиака. Прекрасного разделе-

ния ФЛ при одномерной ТСХ можно достигнуть, применив в качестве элюента систему хлороформ – метанол – раствор аммиака (13:7:1 или 13:5:1). Эта система также нашла широкое применение в анализе ФЛ как РМ, так и животных тканей и синтетических образцов. В двумерной ТСХ наиболее часто применяются смеси хлороформ – метанол – 4 М раствор аммиака (13:7:1) или хлороформ – метанол – 7 М раствор аммиака – вода (26:14:1:1). Так, при наличии фосфатидилхолина при обработке хроматограмм 5% спиртовым раствором ФМК образуются синие пятна на желтом фоне. Все ФЛ, содержащие NH_2 -группу (фосфатидилэтаноламин, лизофосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин), проявляются после обработки 0,3% раствором нингидрина в н-бутаноле, содержащем 3% уксусную кислоту, в виде розовых пятен на белом фоне и др. Количественное определение ФЛ в РМ аттестованным методом сводится к измерению содержания фосфата, входящего в состав этих соединений [46] в пересчете на стеароолеолецитин или фосфорный ангидрид.

Последние достижения в области ВЭЖХ ФЛ продемонстрировали большие возможности колонок с кремниевой кислотой и эффективность проводимого на них разделения в сочетании с количественной оценкой. Однако количества веществ, которые можно разделить с помощью этого метода, сравнительно невелики, поэтому он вряд ли найдет применение в рутинных анализах [46].

Определение флавоноидов в экстракционных маслах

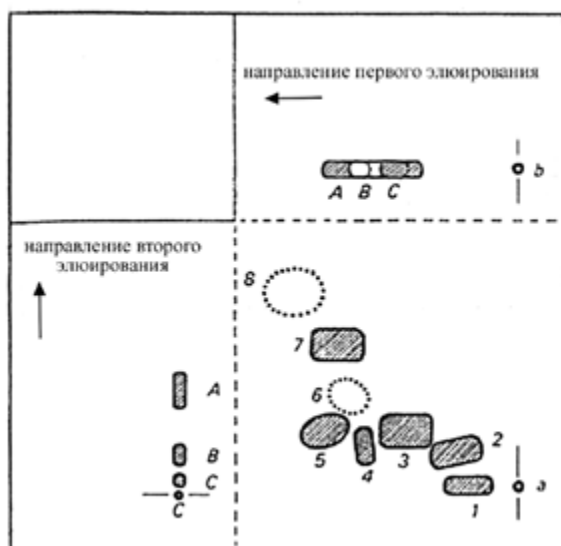
В литературе приводятся результаты исследований, подтверждающих ярко выраженную зависимость биологического действия экстракционных масел от количественного содержания в них флавоноидов [64]. Флавоноиды в РМ попадают в процессе экстракции растительного сырья маслами-экстрагентами. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в РМ в присутствии каротиноидов методом дифференциальной спектрофотометрии. Для анализа содержания суммы флавоноидов в РМ плодов облепихи и шиповника в пересчете на рутин измеряют оптическую плотность 0,2% спиртовых растворов РМ при длине волны $362,5 \pm 2$ нм. В качестве раствора сравнения используют спиртовой раствор стандартного образца β -каротина после предварительного разведения подсолнечным маслом до концентрации, равной содержанию каротиноидов в анализируемом РМ, определенному фотоэлектроколориметрически по общепринятой методике, входящей в НД на препараты [19, 20]. Параллельно проводят измерение оптической плотности спиртового раствора стандартного образца рутина с содержанием 4 мкг/мл относительно растворителя. Данный метод позволяет количественно определить биологически активные флавоноиды экстракционных масел из лекарственных растений.

Определение антиоксидантов (АО) в РМ

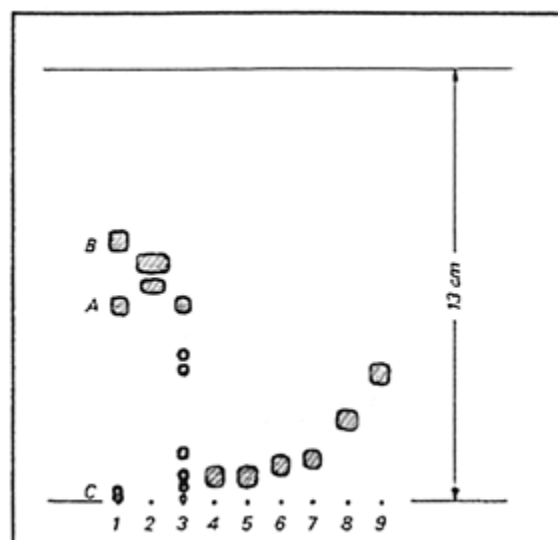
Одним из обязательных требований к частной ФС на конкретное РМ является указание названия введенного экзогенного АО, определение его подлинности и количественного содержания [65]. Для ГФ XIII издания подготовлен проект ОФС, в который включены методики определения качественного содержания АО в РМ. Проект ОФС составлен на основе статей ГФ Республики Казахстан, ГФ Республики Беларусь и ЕФ [51–53]. Испытания проводят методом ТСХ. Идентифицируют неполигидроксиантиоксиданты (НПАО), полигидроксиантиоксиданты (ПГАО) и АО, нерастворимые в метиловом спирте. Условия проведения анализа представлены в таблице 10. Вид получаемых хроматограмм приведен на рисунке 4. Идентификация АО осуществляется путем сравнения положения пятен на хроматограммах испытуемого раствора со свидетелями.

Определение антиоксидантной активности (АОА) РМ и МЭ фармацевтического назначения. Известно, что МЭ из растительного сырья содержат целый комплекс БАВ, обладающих АОА (токоферолы, каротиноиды, фосфолипиды, флавоноиды и др.). В литературе описано определение АОА масла из зародышей пшеницы на модели Fe^{2+} -индуцированного перекисного окисления липидов мембран липосом методом хемилюминесцентного анализа, а также спектрофотометрически по накоплению продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой [66]. Показано, что мембранозащитное действие масла обусловлено содержанием токоферолов, обрывающих цепь АО. Данная методика длительна, трудоемка и требует специального оборудования, а также больших затрат реактивов и материалов. АОА РМ и МЭ фармацевтического назначения, которой соответствует концентрация БАВ восстанавливающего характера, авторы в работе [67] определяли титриметрически по методике, разработанной Т.В. Максимовой с соавторами. В качестве титрантов использовали спиртовые извлечения (1:20) из РМ и МЭ, полученные методом мацерации, с применением в качестве экстрагентов 70% и 96% этанола. Точку эквивалентности устанавливали по обесцвечиванию 0,05 М раствора калия перманганата в присутствии разведенной серной кислоты. В качестве растворов сравнения использовали такие известные АО, как рутин и кверцетин [67]. Данная методика проста в исполнении, однако позволяет определить только суммарную АОА РМ.

Определение показателей чистоты и безопасности применения РМ. В соответствии с НД РМ и МЭ подвергаются анализу на степень чистоты по следующим показателям: наличие мыла (качественная проба); присутствие воска, парафина, перекисей, альдегидов и смоляных масел; содержание влаги и летучих веществ; присутствие воды, белков и посторонних ма-



А. Вид хроматограмм при идентификации НПГАО и АО, нерастворимых в метиловом спирте (1 – гваяковая смола; 2 – 3-(1,1-диметилэтил)-4-метоксифенол; 3 – 2-(1,1-диметилэтил)-4-метоксифенол; 4 – 2,2,5,7,8-пентаметил-6-хроманол; 5 – тетраэтилтиурам дисульфид; 6 – α-токоферол; 7 – дибутилгидроксанизол; 8 – бутилгидрокситолуол)



Б. Вид хроматограмм при идентификации ПГАО (1 – окрашенная зона на старте; 2 – бутилированный гидроксианизол; 3 – гваяковая смола; 4 – нордигидрогваяретовая кислота; 5 – метилгаллат; 6 – этилгаллат; 7 – пропилгаллат; 8 – октагаллат; 9 – декагаллат)

Рисунок 4 а и б. Вид хроматограмм при идентификации АО в РМ (а, б и с – пятна на старте; А – желтый; В – красный; С – синий)

сел [68–70]. Для косточковых масел проводят испытание также на цианиды и синильную кислоту. Основные требования в отношении степени чистоты РМ обобщены в таблице 11.

Основными тяжелыми металлами, нормируемыми в РМ, согласно ОФС ГФ XIII [1] являются сви-

нец, мышьяк, кадмий и ртуть. В соответствующих ГОСТах на отдельные виды РМ дополнительно определяют железо и медь. Допустимые нормы по содержанию тяжелых металлов для РМ пищевого назначения и БАД на основе РМ приведены в таблице 12.

Таблица 10.

Условия проведения ТСХ-анализа АО в РМ

Тип АО	Пробоподготовка	Условия ТСХ-анализа	Проявитель
НПГАО			
Пространственно замещенные алкилфенолы	Раствор РМ в метаноле	Пластины с силикагелем G; двумерное хроматографирование: элюент 1 – хлороформ (высота пробега 10 см), элюент 2 – бензол (высота пробега 10 см). Если на линии старта обнаруживаются синие пятна, то идентифицируют ПГАО	20% спиртовой раствор ФМК
ПГАО			
Нордигидрогваяретовая кислота и алкилгаллаты	Раствор РМ в метаноле	Пластины с силикагелем G; элюент: ледяная уксусная кислота – бензол – петролейный эфир (30:60:60)	20% спиртовой раствор ФМК
АО, нерастворимые в метиловом спирте			
α-токоферол, бутилгидрокситолуол	Неомыляемые АО растворяют в петролейном эфире, полученные после кипячения	Пластины с силикагелем G; двумерное хроматографирование: элюент 1 – хлороформ, элюент 2 – бензол. Если на линии старта обнаруживаются синие пятна, то идентифицируют ПГАО	0,01% спиртовой раствор 2,6-дихлорхинонхлоримида

Таблица 11.

Основные требования в отношении степени чистоты РМ фармацевтического назначения [1, 3, 51–53, 68–70]

№ п/п	Примесь	Реактивы и условия реакции	Аналитический эффект
1	Парафин, воск, смоляные масла	1 мл РМ нагревают с 10 мл 0,5 М спиртового раствора КОН при непрерывном взбалтывании, омыление наступает очень быстро	Полученный прозрачный раствор не должен мутнеть от добавления 25 мл воды
2	Вода и белки	1 мл РМ растворяют в 2 мл бензина	Растворы должны оставаться прозрачными и без осадка
3	Мыла для масел, не предназначенных для приготовления инъекционных растворов	В конической колбе вместимостью 250 см ³ предварительно кипятят 50 см ³ дистиллированной воды с несколькими каплями фенолфталеина (при этом вода должна оставаться бесцветной), а затем добавляют около 10 см ³ испытуемого масла и кипятят еще в течение 5–10 мин. Для равномерного кипения в колбу помещают кусочки пемзы или стеклянные капилляры. По окончании кипячения колбу ставят на лист белой бумаги и добавляют еще несколько капель фенолфталеина	Раствор не должен приобретать розовое окрашивание, что говорит об отсутствии мыла или его содержания в количестве не более 0,01%
4	Мыла для масел, предназначенных для приготовления инъекционных растворов	5 мл масла сжигают в фарфоровом тигле и прокаливают	Остаток не должен превышать 0,01%
		К остатку прибавляют 1 мл воды и при легком нагревании добавляют 2 капли фенолфталеина	Жидкость не должна окрашиваться в стойкий розовый цвет. Содержание мыла в масле – не более 0,001%
5	Примеси мыла в РМ (по ЕФ)	10 мл РМ растворяют в конической колбе в смеси 10 мл ацетона и 0,3 мл воды, добавляют 0,05 мл 0,04% спиртового раствора бромфенолового синего	Добавление не более 0,1 мл 0,01 М раствора кислоты хлористоводородной должно вызывать изменение синей окраски на желтую
6	Переокислы, альдегиды	1 мл РМ взбалтывают в течение 1 мин с 1 мл конц. соляной кислоты, прибавляют 1 мл эфирного раствора флороглюцина (1:1000) и снова встряхивают	Не должно наблюдаться розового или красного окрашивания
7	Цианиды, синильная кислота	В небольшую колбу вносят 5 мл РМ и 5 мл разведенной серной кислоты. Колбу неплотно закрывают корковой пробкой со щелью в нижней части пробки по диаметру. В щель вставляют полоску фильтровальной бумаги шириной 1 см и такой длины, чтобы нижний край полоски находился на 1–1,5 см над уровнем жидкости. Нижний конец полоски смачивают 1 каплей раствора едкого натра. Колбу закрывают пробкой со вставленной полоской и ставят на горячую водяную баню на 15 мин. Затем колбу снимают, кончик полоски, смоченный раствором едкого натра, отрезают и помещают в фарфоровую чашку. На бумагу в чашке наносят 1 каплю насыщенного раствора сульфата закисного железа и нагревают на водяной бане 1 мин. На бумагу в чашке наносят 1 каплю 5% раствора хлорида окисного железа и 1 каплю концентрированной соляной кислоты	Не должно наблюдаться синего или голубого окрашивания жидкости или бумаги
8	Минеральные масла	4 г РМ нагревают на водяной бане в колбе с обратным холодильником при частом взбалтывании с 50 мл 0,5 М спиртового раствора едкого кали до полного омыления. К 20 мл омыленной жидкости прибавляют 40 мл теплой воды	Раствор должен оставаться прозрачным

Таблица 12.

Допустимые нормы для РМ пищевого назначения и БАД на основе РМ, мг/кг [1, 6]

№ п/п	Тяжелый металл	Предельно допустимое содержание
1	Pb	0,1 (арахисовое 0,2)
2	Cd	0,05
3	Hg	0,03
4	As	0,1
5	Cu	0,5
6	Fe	5,0
7	Ni (в арахисовом гидрогенизированном масле по ЕФ)	1,0

Нормирование радионуклидов и остаточных пестицидов, а также веществ канцерогенного действия – бензопиренов и микотоксинов проводится только для РМ, контролируемых ГОСТами. Микотоксины в РМ определяют в соответствии с требованиями СанПин [6] преимущественно методами ИФА и ВЭЖХ. В некоторых НД испытание на присутствие микотоксинов в РМ проводят по биотесту с инфузориями [10]. Для здоровья человека одними из наиболее опасных токсинов являются афлатоксин, содержание которого должно быть не более 0,005 мг/кг для нерафинирован-

ных РМ и масличных культур, и ократоксин, содержание которого не нормируется [6].

Микробиологическая чистота РМ. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота» (категория 3А) для фармакопейных масел. В 1 г испытуемого масла допускается наличие не более 1000 бактерий и 100 дрожжевых и плесневых грибов (суммарно). Не допускается наличие бактерий *Escherichia coli* [1]. Предельно допустимое содержание микрофлоры для МЭ фармацевтического назначения не разработано. Для оценки их качества по показателю микробиологическая чистота могут быть использованы нормативы, рекомендованные СанПин 2.3.2.1078-01 [6] для РМ и БАД на основе РМ (таблица 13).

Хранение РМ. В результате длительного хранения на свету, при повышенной температуре или под действием микроорганизмов РМ портятся (прогоркают), что сопровождается ухудшением органолептических свойств, а также повышением КЧ, ПЧ, АЧ, ИО и снижением величин ЙЧ, ПП и ЧО. Установлено, что окисление БАВ РМ происходит задолго до изменения данных физико-химических показателей [30]. Продукты окисления ЖК, низкомолекулярные ЖК и их глицериды, продукты распада каротиноидов, стериннов, витаминов, ФЛ придают РМ неприятный запах и вкус [2]. Для предотвращения прогоркания РМ хранят в герметичной упаковке, максимально наполненной, в сухом прохладном затемненном месте. Срок годности РМ зависит от содержания в нем ЖК и витамина Е. РМ с высоким содержанием насыщенных ЖК сохраняются дольше масел, у которых высокое содержание ненасыщенных ЖК. Содержание витамина Е также увеличивает срок годности масла [2].

Таблица 13.

Нормативы микробиологической чистоты для МЭ и масел-экстрагентов, применяемых в фармации по НД [6]

№ п/п	Нормируемый показатель	Требования по НД					
		КМАиФАМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи, КОЕ/г, не более	Плесени, КОЕ/г, не более
			БГКП (коли-формы)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Патогены (в т.ч. сальмонеллы)		
1	Допустимые нормы для РМ, БАД на основе РМ пищевого назначения	–	0,001	–	25	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$
2	Допустимые нормы для РМ для наружного применения	$1 \cdot 10^4$	0,01	–	25	50	50

Примечание: КМАиФАМ – количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов; БГКП – бактерии группы кишечной палочки; КОЕ – колоний образующих единиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка современных подходов к стандартизации РМ и МЭ фармацевтического назначения продолжает оставаться актуальной задачей. РМ являются весьма сложными объектами для анализа. Это связано с малым содержанием БАВ в них, переменностью состава, зависящего от качества исходного растительного сырья, технологии производства, а также нестойкостью при хранении вследствие самопроизвольно происходящих каскадных реакций перекисного окисления липидов. БАВ РМ при этом выполняют роль эндогенных АО, так как относятся к группе легкоокисляющихся веществ (токоферолы, каротиноиды). В настоящее время, конечно, наметилась тенденция к переходу стандартизации РМ по содержанию БАВ, обуславливающих фармакологическую активность, что отвечает современным веяниям в вопросах оценки качества РМ, применяемых в фармации, на мировом уровне. Значительно расширился в последних НД перечень показателей безопасности применения РМ [71]. Более дифференцированы подходы к определению степени окисленности РМ. Так, традиционное измерение величины ПЧ титриметрическим методом сегодня дополняется оценкой накопления более глубоких продуктов окисления липидов (альдегидов и кетонов) современными физико-химическими методами. Исследование состава ЖК дополняется в НД требованиями по установлению присутствия и количественного содержания трансизомеров ЖК, известных своими негативными эффектами на организм человека. Все это в совокупности позволит сделать стандартизацию РМ и МЭ фармацевтического назначения более прозрачной, отвечающей современному уровню развития фармацевтической науки.

ЛИТЕРАТУРА

- ОФС «Масла жирные растительные» // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. URL: <http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/spisok-obschih-farmakopeynyh-statey> (дата обращения 11.10.2015).
- Н.С. Терешина, З.П. Костенникова, И.А. Самылина. Масла, используемые для получения гомеопатических лекарственных форм // Фармация. 2011. № 8. С. 48–51.
- Государственная фармакопея СССР. 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. С. 483–485.
- А.Н. Шиков, В.Г. Макаров, В.Е. Рыженков. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства. – М.: Русский врач, 2004. С. 100–112.
- С.А. Минина, И.Е. Каухова. Химия и технология фитопрепаратов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. С. 252.
- СанПин 2.3.21078-01. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов от 14.11.2001/22.03.02. URL: http://www.service-holod.ru/SanPiN2/SanPiN_2_3_2_1078_01.htm (дата обращения 21.02.2016).
- ГОСТ 18848-73. Масла растительные. Показатели качества. Термины и определения. – М.: Стандартинформ, 2005. 5 с.
- ГОСТ Р 52465-2005. Масло подсолнечное. – М.: Изд-во стандартов, 2007. 16 с.
- ГОСТ 6757-96. Масло касторовое техническое. – М.: Изд-во стандартов, 1997. 7 с.
- ГОСТ 8808-2000. Масло кукурузное. – М.: Изд-во стандартов, 2002. 11 с.
- ГОСТ 8990-59. Масло кунжутное. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 6 с.
- ГОСТ Р 53510-2009. Масло соевое. – М.: Изд-во стандартов, 2010. 14 с.
- ГОСТ 1128-75. Масло хлопковое рафинированное. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 9 с.
- ГОСТ 5791-81. Масло льняное техническое. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 7 с.
- ГОСТ 10113-62. Масло рыжиковое. – М.: Изд-во стандартов, 2003. 5 с.
- ГОСТ Р 53457-2009. Масло рапсовое. – М.: Изд-во стандартов, 2010. 14 с.
- ГОСТ 10766-64 с изменениями и дополнениями. Масло кокосовое. – М.: Изд-во стандартов, 1964. 7 с.
- ГОСТ Р 53776-2010. Масло пальмовое рафинированное. – М.: Изд-во стандартов, 2010. 11 с.
- ФС 42-3873-99. Масло облепиховое в ректокапсулах по 0,55 для детей. неполная информация
- ФС 42-42-10179-99. Масло шиповника. – М.: Изд-во стандартов, 1999. 16 с.
- ГОСТ 31663-2012. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. 11 с.
- ГОСТ 31665-2012. Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. 11 с.
- ГОСТ 5472-50. Масла растительные. Определение запаха, цвета и прозрачности. 1990. С. 9–12.

24. ГОСТ 5482-90. Масла растительные. Метод определения показателя преломления. – М.: Изд-во стандартов, 1992. С. 56–57.
25. ГОСТ 5478-90. Масла растительные и натуральные жирные кислоты. Метод определения числа омыления. – М.: Изд-во стандартов, 1992. С. 39–41.
26. ГОСТ 5477-93. Масла растительные. Метод определения цветности. – М.: Изд-во стандартов, 1995. С. 33–37.
27. ГОСТ 50457-92. Масла растительные. Методы определения кислотного числа. – М.: Изд-во стандартов, 1992. С. 177–180.
28. ГОСТ Р 54896-2012. Масла растительные. Определение показателей качества и безопасности методом спектроскопии в ближней инфракрасной области. – М.: Стандартиформ, 2012. 11 с.
29. Патент РФ № 2119161. МПК G 01 N 33/00. Способ потенциометрического определения кислотного числа растительного масла / В.Е. Акулинин, О.Е. Рувинский, С.Я. Шарудина; патентообл. Кубанский государственный технологический университет; заявл. 20.05.1997; опублик. 20.09.1998.
30. О.В. Чечета. Исследования по стандартизации и оценке качества растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации: дисс. ... к.фарм.н. – Курск. 2009.
31. ГОСТ 5475-69. Масла растительные. Методы определения йодного числа. – М.: Изд-во стандартов, 1987. С. 20–23.
32. А.В. Луговой, Н.И. Чертков, А.Г. Сергеев, А.Н. Миронова. Хранение растительных масел и жиров. – М.: Агропромиздат, 1989. С. 19–23.
33. ГОСТ 51487-99. Масла растительные. Метод определения перекисного числа. – М.: Изд-во стандартов, 1999. С. 89–93.
34. ГОСТ 31756-2012. Жиры и масла животные и растительные. Определение анизидинового числа. – М.: Стандартиформ, 2014. 12 с.
35. ГОСТ Р 55810-2013. Метод определения тиобарбитурового числа. – М.: Стандартиформ, 2014. 6 с.
36. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение спектральных характеристик спиртовых растворов растительных масел и масляных экстрактов методом УФ-спектрофотометрии // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2007. № 2. С. 171–173.
37. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, О.В. Фролова. Оценка качества растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2007. № 2. С. 174–177.
38. Е.Ф. Сафонова. Выделение и изучение фосфолипидов масла семян амаранта: автореф. дисс. ... к.х.н. – М. 2004. 28 с.
39. М.В. Гаврилин, Л.С. Ушакова, М.В. Гаврилова. Альтернативные показатели качества жирных масел // Сборник науч. трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». – Пятигорск. 2009. Вып. 64. С. 261–263.
40. Н.Н. Глущенко, Т.А. Лобаева, Т.А. Байтукалов и др. Анализ показателей качества фитопрепаратов на основе жирных растительных масел // Фармация. 2005. № 3. С. 7–9.
41. Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, А.А. Назарова и др. Проблемы стандартизации растительных масел и масляных экстрактов // Тезисы докл. 2-й Всероссийской научно-методической конференции «Фармобразование-2005». – Воронеж. 2005. С. 389–391.
42. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Экспресс-анализ в оценке качества растительных масел и масляных экстрактов // Материалы IX Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке». – М. 2008. С. 199–200.
43. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, С.В. Снопов, А.И. Сливкин. Исследование спектральных характеристик растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации // Материалы Всероссийской с международным участием научно-методической конференции «Фармобразование-2010», Ч. II. – Воронеж. 2010. С. 403–406.
44. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Исследование возможности применения ИК-спектроскопии для стандартизации и оценки качества растительных масел и масляных экстрактов // Тезисы докл. 4-й Всероссийской с международным участием научно-методической конференции «Фармобразование-2010», Ч. II. – Воронеж. 2010. С. 394–398.
45. Н.С. Арутюнян, Е.П. Корнена. Фосфолипиды растительных масел // М.: Агропромиздат, 1986. 256 с.
46. Н.А. Тюкавкина, А.С. Берлянд, Т.Е. Елизарова и др. Стандартизация и контроль качества лекарственных средств: учебное пособие / Под ред. Н.А. Тюкавкиной. – М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 384 с.
47. В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, Н.Г. Габрук и др.. Анализ растительных масел с использованием ВЭЖХ // Журнал аналитической химии. 2003. Т. 58. № 12. С. 1294–1299.
48. В.И. Денисов, Л.А. Дейнека. Анализ растительных масел методом микроколоночной высокоэффек-

- тивной жидкостной хроматографии // Журнал аналитической химии. 2004. Т. 59. № 9. С. 993–997.
49. О.Б. Рудаков, К.К. Полянский. Хроматографическая идентификация растительных масел // Хранение и переработка сельхозсырья. 2001. № 10. С. 37–40.
50. О.Б. Рудаков, К.К. Полянский. Развитие метода интерпретации хроматограмм животных жиров // Хранение и переработка сельхозсырья. 2001. № 10. С. 40–42.
51. European Pharmacopoeia: Supplement, 1997. 2nd ed. – Strasbourg: Council of Europe, 1996. XVIII. 1765 p.
52. European Pharmacopoeia: Supplement, 2001. 3rd ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2000. V.XIV. 1705 p.
53. European Pharmacopoeia: Supplement. 6th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2008. 3905 p.
54. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Вып. 4. С. 646–653.
55. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Применение метода тонкослойной хроматографии для идентификации растительных масел и масляных экстрактов // Сборник материалов XVI национального конгресса «Человек и лекарство». – М. 2009. С. 765–766.
56. О.А. Рабина, А.И. Вялков, Е.И. Черняк и др. Анализ хроматографических профилей жирных кислот, токоферолов и стерина как метод идентификации и прогнозирования свойств растительных масел и продуктов // Тезисы докл. V Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ». – Уфа. 2008. С. 245.
57. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, Г.А. Оголь. Определение суммы каротиноидов в растительных маслах и масляных экстрактах // Тезисы докл. 3-й Всероссийской научно-методической конференции «Фармобразование-2007». Ч. I. – Воронеж. 2007. С. 306–308.
58. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Изучение каротиноидного состава растительных масел плодов облепихи и шиповника методом ТСХ // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. Т. 9. № 2. С. 3–6.
59. Э.Э. Котова. К вопросу о стандартизации некоторых жирных растительных масел и препаратов на их основе // Фармаком. 2004. № 2. С. 1–9.
60. Е.Е. Чупандина, О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение витамина Е в растительных маслах // Фармация. 2009. № 6. С. 12–16.
61. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение α -токоферола в жирных растительных маслах и масляных экстрактах методом хроматографии в тонком слое сорбента // Сборник материалов XIV национального конгресса «Человек и лекарство». – М. 2007. С. 778.
62. О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Определение токоферолов методом хроматографии в тонком слое сорбента // Химико-фармацевтический журнал. 2008. Т. 42. № 8. С. 31–34.
63. ГОСТ 30417-96. Методы определения массовых долей витаминов А и Е в растительных маслах. – М.: Изд-во стандартов, 1997. 102 с.
64. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, С.В. Снопов, А.И. Сливкин. Определение флавоноидов в растительных маслах методом дифференциальной спектрофотометрии // Тезисы докл. Всероссийской с международным участием научно-методической конференции «Фармобразование-2010». Ч. II. Воронеж, 20–22 апреля (2010). С. 399–402.
65. И.П. Рудакова, О.И. Терешкина, И.А. Самылина. Антиоксиданты в жирных маслах и их идентификация // Фармация. 2015. № 7. С. 54–56.
66. И.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин, Н.А. Тюкавкина и др. Антиоксидантная активность масла из зародышей пшеницы // Фармация. 2001. № 2. С. 15–18.
67. О.В. Тринеева, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, И.И. Сафонова. Определение антиоксидантной активности растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2013. Т. 79. № 2. С. 26–27.
68. ГОСТ 5480-59. Масла растительные. Методы определения мыла. – М.: Изд-во стандартов, 1990. С. 45–46.
69. ГОСТ 50456-92. Масла растительные. Метод определения содержания влаги и летучих веществ. – М.: Изд-во стандартов, 1994. С. 192–194.
70. О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин. Изучение степени чистоты растительных масел и масляных экстрактов // Тезисы докл. межрегиональной научно-методической конференции «Проблемы здоровьесбережения школьников и студентов. Новые научные тенденции в медицине и фармации». – Воронеж, 2008. С. 482–483.
71. ТР ТС 024/2011. Технический регламент на масло-жировую продукцию. 2011. 37 с.