

МАКАРЕНКО МАРИЯ АНДРЕЕВНА

**ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ОКИСЛЕНИЯ
И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ КОНТАМИНАНТОВ НЕКОТОРЫХ
ПИЩЕВЫХ МАСЕЛ, ЖИРОВ И МАСЛОЖИРОВЫХ ПРОДУКТОВ**

3.2.1. Гигиена

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Федеральном исследовательском центре питания, биотехнологии и безопасности пищи, г. Москва.

Научный руководитель: **Бессонов Владимир Владимирович**
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией химии пищевых продуктов
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Официальные оппоненты: **Малышева Алла Георгиевна**
член-корреспондент РАН,
доктор биологических наук, профессор,
ведущий научный сотрудник отдела гигиены
ФГБУ "ЦСП" ФМБА России

Федорова Наталия Евгеньевна
доктор биологических наук,
главный научный сотрудник отдела аналитических методов
контроля Института гигиены, токсикологии пестицидов и
химической безопасности пестицидов ФБУН "ФНЦГ им.
Ф.Ф. Эрисмана" Роспотребнадзора

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Защита диссертации состоится "___" _____ 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.241.02 при ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» по адресу: 109240, Москва, Устьинский проезд 2/14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» по адресу: 109240, Москва, Устьинский проезд 2/14 и на сайте Центра <https://www.ion.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Шумакова Антонина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования.

Пищевые растительные масла и жиры являются одним из основных источников энергии в питании человека. Они придают пище приятную текстуру, являются носителями вкуса и аромата [О'Брайен, Р., 2007] а также служат субстратом для доставки в организм биологически активных веществ, в частности, таких как ненасыщенные жирные кислоты, жирорастворимые витамины и провитамины, фосфатиды [Технология производства растительных масел: учебник для вузов по спец. "Технология жиров", 1985]. Однокомпонентные растительные масла и жиры служат для производства составных масложировых и маслосодержащих продуктов с заданными свойствами и составом – заменителей других растительных дорогостоящих масел (например, какао), жиров специального назначения (шортенингов), маргаринов и других. Такие продукты могут использоваться как ингредиенты для пищевой промышленности (хлебопекарной, кондитерской и проч.), так и в качестве самостоятельных продуктов (маргарины). При этом одним из основных растительных масел как в производстве на территории Российской Федерации, так и в структуре питания ее населения, является подсолнечное масло [Иванова Н.Ю., Казаков И.А. Анализ потребления растительных масел в России \\ Модернизация научной инфраструктуры и цифровизация образования. Материалы XI Международной научно-практической конференции. Ростов-на-Дону, 2021.].

Для реализации на российском рынке масложировая продукция должна соответствовать требованиям качества и безопасности, установленным в Технических регламентах Таможенного союза ТР ТС 024/2011 «Технический регламент на масложировую продукцию» (далее ТР ТС 024/2011) и ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» (далее ТР ТС 021/2011). Обеспечение требований регламентов в случаях использования масел после длительного хранения или транспортировки, например, из региона выращивания с иным климатом, может реализовываться производителями в том числе путём применения повторных циклов рафинации и/или дезодорации. Основная цель этого процесса - снижение показателей окислительной порчи, таких как кислотное и перекисное числа, до приемлемых значений. В некоторых случаях, например, при производстве масложировых смесей, количество таких очисток может достигать трёх и более: после производства ингредиентных масел, после доставки в регион переработки и после переэтерификации. Такая глубокая очистка может привести к значительному снижению устойчивости масел к окислению из-за частичного или полного удаления естественных антиоксидантов [Бурункова Ю.Э, Успенская М.В., Самуйлова Е.О., 2020]. С другой стороны, в этих условиях ненасыщенные жирные кислоты растительных и жиров, особенно содержащие цис- двойные связи, подвержены изомеризации и образованию новых соединений, часть из которых могут представлять опасность для здоровья человека. Такими соединениями могут быть транс-изомеры жирных кислот [Oteng A.-B., Kersten

S., 2020], некоторые альдегиды [Goicoechea E. et al., 2011], токсины (лейко-, изолейкотоксины) [Markaverich V. M. et al, 2005].

Перекисное, кислотное и в некоторых случаях анизидиновое числа являются основными показателями безопасности пищевых масел и жиров, по которым осуществляется оценка процессов окислительной порчи при производственном контроле масложировой продукции и при ее и контроле/надзоре в обороте. Кислотное число показывает содержание свободных жирных кислот, образующихся нативно в прессовых маслах под действием липаз или при гидролизе ацилглицеридов в очищенных маслах. Анизидиновое число связано с содержанием вторичных продуктов окисления, а именно альдегидов и кетонов, главным образом ненасыщенных. Его измерение проводят на более поздних этапах окисления ввиду его недостаточной чувствительности к низким уровням вторичных продуктов окисления.

Перекисное число, как принято считать, отражает содержание первичных продуктов окисления в жировых продуктах, его определение проводят наиболее часто. Однако этот метод не может дать чётких данных по ряду причин. К ним относятся: зависимость результатов от условий производства продукта и проведения анализа, методов извлечения жира (при анализе пищевых продуктов), присутствия антиоксидантов, прооксидантов, катионов металлов и других реакционных соединений, а также от квалификации оператора [Damergau A. et al., 2020, «The international fragrance association. IFRA analytical method. Determination of the peroxide value», 2019]. Кроме того, первичные продукты окисления не являются устойчивыми соединениями и разлагаются до вторичных продуктов окисления со скоростью, превышающей образование самих пероксидов. В этом контексте исследование вторичных продуктов окисления масел и поиск среди них индивидуальных маркеров окислительного статуса может стать перспективным направлением.

Помимо прочего, условия и количество циклов проведения рафинации и дезодорации могут способствовать образованию новых нежелательных веществ, представляющих опасность для здоровья человека. К таким веществам относятся, в том числе, сложные эфиры 3-монохлорпропан-1,2-диола с жирными кислотами (3-МХПДЭ), 2-монохлорпропан-1,3-диола с жирными кислотами (2-МХПДЭ) и сложные глицидиловые эфиры с жирными кислотами (ГЭ) [European Food Safety Authority. Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), 2016]. Некоторые из этих веществ отнесены к возможным канцерогенам человека [Agents Classified by the IARC Monographs, 2021]. На сегодняшний день в государствах – членах Евразийского экономического союза, в т.ч. в Российской Федерации, действует норматив по содержанию глицидиловых эфиров в растительных маслах не для производства детского питания в пересчете на глицидол не более 1,0 мг/кг [Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 06.08.2019 г. № 132]. В странах Европейского Союза с 23 сентября 2020 года действует норматив по

содержанию эфиров 3-МХПД в пересчёте на свободный 3-МХПД – не более 1,25 мг/кг [Commission Regulation (EU) 2020/132, 2020].

На момент подготовки и написания настоящей работы в литературе не были обнаружены опубликованные результаты систематизированных исследований по содержанию индивидуальных продуктов первичного и вторичного окисления липидов в пищевых маслах и жирах различной степени обработки. Кроме того, в Российской Федерации отсутствовала официально утвержденная и аттестованная методика определения 3-МХПДЭ, 2-МХПДЭ и ГЭ в пищевых растительных маслах и жирах; не проводились исследования по оценке содержанию данных соединений в пищевых маслах, представленных на российском рынке.

Таким образом, существует необходимость в разработке новых подходов, позволяющих проводить оценку начальных этапов окислительного статуса пищевых растительных масел и жиров, в том числе определять индивидуальные вторичные продукты окисления липидов, а также осуществлять лабораторный контроль содержания технологических контаминантов масложировой продукции различной степени обработки - эфиров монохлорпропандиолов и глицидиловых эфиров.

В связи с вышеизложенным, **целью исследования** было определение влияния степени переработки пищевого растительного масла на его устойчивость к окислению, формирование вторичных продуктов окисления и технологических контаминантов - сложных эфиров монохлорпропандиолов и глицидола с жирными кислотами.

Для достижения поставленной цели решали следующие **задачи**:

1. Определить способ и оптимальные условия анализа летучих веществ подсолнечного масла разной степени очистки.
2. Оценить устойчивость подсолнечных масел к окислению в зависимости от степени очистки. Идентифицировать индивидуальные летучие вещества и вторичные продукты окисления подсолнечных масел разной степени очистки. Оценить преобладающие индивидуальные летучие соединения по степени опасности для здоровья человека.
3. Разработать и метрологически аттестовать метод определения сложных эфиров монохлорпропандиолов и глицидола с жирными кислотами в пищевых маслах и жирах.
4. Оценить влияние степени очистки подсолнечных масел на образование сложных эфиров монохлорпропандиолов и глицидола с жирными кислотами.
5. Изучить содержание сложных эфиров монохлорпропандиолов и глицидола с жирными кислотами в различных пищевых маслах, жирах и масложировых продуктах, представленных на Российском рынке.

Научная новизна. Впервые:

- проведена комплексная оценка изменения химического состава пищевых подсолнечных масел в зависимости от степени переработки в условиях традиционных технологий производства масложировых продуктов: исследованы жирнокислотный состав масел, содержание первичных и

вторичных продуктов окисления, профиль летучих веществ, включая летучие вторичные продукты окисления, определены уровни технологических контаминантов - эфиров монохлорпропандиолов (3-МХПД, 2-МХПД) и глицидиловых эфиров.

- получены данные, свидетельствующие о негативном влиянии повторных дезодораций на содержание вредных для здоровья человека веществ - транс-изомеров жирных кислот, ненасыщенных альдегидов и эфиров МХПД, а также на образование потенциально канцерогенных летучих веществ, например 1,2-эпоксидбутана

- показана взаимосвязь условий хранения масложировой продукции разной степени очистки (температуры, влажности, освещения и аэрации, близких к нормальным, и длительности хранения) и уровней содержания в ней летучих вторичных продуктов окислительной порчи и технологических контаминантов.

- впервые в Российской Федерации проведены исследования содержания технологических контаминантов (эфиров МХПД и глицидиловых эфиров) в пищевых растительных маслах, жирах и масложировых продуктах, представленных на отечественном рынке.

- подтвержден факт, что наличие рафинированных дезодорированных масел в составных масложировых продуктах коррелирует с повышенными уровнями эфиров МХПД и глицидиловых эфиров.

Практическая значимость работы.

1. Разработаны Методические указания МУК 4.1.3547-19 «Определение содержания 3-монохлорпропандиола, 2-монохлорпропандиола и глицидола в пищевых растительных маслах и животных жирах». Они позволяют проводить определение содержания этих технологических контаминантов методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС/МС). Диапазон определяемых концентраций методики позволяет использовать ее для обеспечения единых санитарных требований для масел растительных в части контроля содержания глицидиловых эфиров жирных кислот в пересчете на глицидол (Решение №132 от 06.08.2019). Методика также может быть использована для обеспечения нормативов по содержанию эфиров 3-монохлорпропандиола в масложировой продукции, если таковые будут введены на территории Российской Федерации.

Разработанные Методические указания являются основной рабочей методикой определения 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в лаборатории химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». МУК 4.1.3547-19 также внедрены в работу и применяются ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, лабораториями Роспотребнадзора, выполняющих исследования в рамках Национального проекта «Демография» для определения вышеуказанных контаминантов в масложировой продукции. МУК 4.1.3547-19 включен в перечень исследований:

- Методических рекомендаций МР 2.3.7.0168-20 Оценка качества пищевой продукции и оценка доступа населения к отечественной пищевой продукции, способствующей устранению дефицита макро- и микронутриентов.

Методические рекомендации утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 20.03.2020;

- Методических рекомендаций МР 2.3.7.0271-22 Изменения №2 в МР 2.3.7.0168-20 Оценка качества пищевой продукции и оценка доступа населения к отечественной пищевой продукции, способствующей устранению дефицита макро- и микронутриентов.

2. Научно обоснованы предложения по корректировке требования об обязательной обработке масел растительных после транспортировки наливом («как минимум проведение одной рафинации по полному или частичному циклу, включая дезодорацию») в Проекте изменений «Технического регламент на масложировую продукцию», пункт 7 (ТР ТС 024/2011).

Кроме того, материалы работы использованы:

- при подготовке проекта методических рекомендаций «Определение содержания 3-монохлорпропандиола, 2-монохлорпропандиола и глицидола в кондитерской продукции»;

- в научно-исследовательской работе «Изучение содержания технологических контаминантов и вторичных продуктов окисления в пищевых жирах высокой степени переработки» (2018 год);

- в научно-исследовательской работе "Разработка, оценка эффективности и характеристика качества специализированной диетической профилактической и диетической лечебной пищевой продукции для оптимизации питания населения, в том числе пожилого и старческого возраста", раздел 5 «Изучение содержания технологических контаминантов и вторичных продуктов окисления в пищевых жирах высокой степени переработки» (2020 год).

Часть раздела по определению содержания эфиров 3-МХПД, 2-МХПД, эфиров глицидола в пищевых маслах и жирах различного происхождения и способа обработки была выполнена в рамках гранта РФФИ (Проект № 19-76-30014 "Фундаментальные исследования паттернов питания человека как основа перспективных технологий производства пищевых продуктов заданного состава и свойств для реализации стратегии здорового питания и профилактики социально значимых заболеваний").

Часть раздела по изучению жирнокислотного состава и летучих соединений подсолнечных масел была выполнена в рамках гранта РФФИ (Проект №19-16-00113 «Изучение кристаллизационных свойств отдельных фракций пчелиного воска и их комбинаций для разработки пищевых олеогелей с заданным составом и свойствами»).

Положения, выносимые на защиту.

1. Проведение дополнительных дезодораций (более одной дезодорации) может снижать окислительную устойчивость пищевых масел, повышать содержание в них вредных для здоровья человека соединений, таких как транс-изомеры жирных кислот, ненасыщенные альдегиды и эфиры монохлорпропандиолов.

2. Технология изготовления составных масложировых продуктов обуславливает высокий уровень контаминации МХПДЭ и ГЭ. Для обеспечения безопасности таких видов продукции необходима оптимизация

технологических процессов, а именно снижение температур обработки до уровней, которые обеспечивают приемлемую эффективность работы оборудования с достижением предлагаемого норматива по содержанию глицидиловых эфиров в пересчете на глицидол (не более 1 мг/кг масла).

3. Метод твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) с ГХ-МС/ПВД является перспективным инструментом для регистрации и идентификации летучих веществ, характеризующих аромат пищевых масел и жиров. Одним из основных составляющих этого аромата являются летучие вторичные продукты окисления.

4. Идентификация и измерение летучих вторичных продуктов окисления могут быть использованы для оценки контаминации вторичных продуктов окисления на ранних этапах окислительной порчи пищевых масел и жиров.

Апробация материалов диссертации. *Материалы данной работы были представлены на:*

- Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные вопросы нутрициологии, биотехнологии и безопасности пищи материалы», Москва, 2017 г (устный доклад).

- II школе молодых учёных «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний», Москва, 2019 г (устный доклад).

- Конференции «Масложировая индустрия», Санкт-Петербург, 2019 г (устный доклад).

- Конференции «Еда будущего» в рамках 28-й международной выставки продуктов питания, напитков и сырья для их производства «Продэкспо-2021», Москва, 2021 г (устный доклад).

- Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные вопросы нутрициологии, биотехнологии и безопасности пищи материалы», Москва, 2018 г (постерный доклад).

- IV Бизнес-форуме «Пищевая индустрия и медицина. Ответ на новые вызовы в условиях технологической изоляции», Москва, 2022 (устный доклад).

Личный вклад автора.

Личный вклад соискателя при планировании, организации и проведении исследований составил 90%. Обработка, обобщение и оформление результатов были выполнены автором данной работы самостоятельно.

Публикации.

По результатам исследований опубликовано 9 печатных работ, в том числе 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК, получено 1 свидетельство о регистрации методики анализа.

Структура и объем диссертации.

Работа изложена на 236 страницах машинописного текста, содержит 45 таблиц, 65 рисунков. Состоит из введения, аналитического обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы исследований, двух глав собственных исследований, выводов, списка литературы, четырех приложений. Список

литературы включает 347 источников, в том числе 20 на русском языке и 327 на английском.

ОБЪЕКТЫ, ОБЪЕМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования в изучении процессов окисления являлись прессовые и очищенные подсолнечные масла, произведённые в условиях современного промышленного предприятия с использованием заводского лабораторного рафинатора в период с 2017 по 2019 годы. Прессовое масло получали путём прямого отжима, нейтрализовали, отбеливали и последовательно дезодорировали несколько раз (Табл.1). На каждом этапе проводили отбор проб, которые затем доставлялись в лабораторию.

Таблица 1. Последовательность очисток подсолнечных масел.

Обозначение образцов	Прессовое	1P1Д	1P2Д	1P3Д	1P4Д
Количество рафинаций	0	1	1	1	1
Количество дезодораций	0	1	2	3	4

Часть масел исследовали в неокисленном виде, например, «прессовое» и 1P1Д-1P4Д 2019 г производства. Масла других годов производства подвергались форсированному (подготовительный эксперимент) и нефорсированному (в течение 6-8 недель, основной эксперимент) окислению в климатической камере КК 240 (POL-EKO APARATURA, Польша) в лабораторных условиях. Условия форсированного окисления: 200 мл масла смешивали с 5,4 мг $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, разливали по чашкам Петри диаметром 9,5 мм и 10,5 мм и толщиной слоя 0,9 см и помещали в климатическую камеру с условиями: влажность 30 %, температура 50 °С, постоянное освещение и доступ воздуха. Длительность экспериментов составляла 3 и 6 суток для подбора ТФМЭ-волокон и 1 сутки для подбора условий ТФМ-экстракции. Эксперименты проводили с маслами прессовым, 1P1Д и 1P4Д (2017 г производства) и 1P1Д (2018 г производства).

Условия форсированного окисления устанавливались произвольно с тем чтобы обеспечить повышенное образование продуктов деградации жирных кислот (использование хлорида железа, влажность, аэрирование, освещение), характерных исключительно для начальных этапов окисления (температура не более 80 °С). Различные типы масел, использованные в эксперименте по подбору волокна, были выбраны чтобы обеспечить предполагаемое максимальное разнообразие вторичных продуктов окисления в заданных условиях.

Условия нефорсированного окисления: влажность 30 %, температура 35 °С, освещение и аэрация. Кодировка полученных образцов представлена в табл.2. Работали с маслами 1P1Д, 1P2Д и 1P3Д (2018 г производства).

Таблица 2. Кодировка окисляемых образцов основного эксперимента и сроки их хранения в климатическом шкафу.

Тип масла	Срок хранения в неделях								
	0 нед	1 нед	2 нед	3 нед	4 нед	5 нед	6 нед	7 нед	8 нед
1P1Д	1Д0Н	1Д1Н	1Д2Н	1Д3Н	1Д4Н	1Д5Н	1Д6Н		
1P2Д	2Д0Н	2Д1Н	2Д2Н	2Д3Н	2Д4Н	2Д5Н	2Д6Н	2Д7Н	2Д8Н

1РЗД	ЗД0Н	ЗД1Н	ЗД2Н	ЗД3Н	ЗД4Н	ЗД5Н	ЗД6Н	ЗД7Н	ЗД8Н
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Условия нефорсированного окисления устанавливали произвольно приближенными к стандартным. Температура была выбрана выше стандартной комнатной 25 °С на 10 °С для повышения скорости образования вторичных продуктов окисления.

Объектами исследования в изучении содержания технологических контаминантов являлись очищенные подсолнечные масла, произведённые в 2018-2019 гг., а также различные виды масел, жиров, и масложировых смесей, представленных на отечественном потребительском рынке и поступавшие в лабораторию ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в период с 2019 по 2020 гг.

Материалы, методы и объем исследования. В работе использовали химические, физико-химические и статистические методы анализа, а также математическое моделирование. Объекты, показатели и методы исследований, а также объем проанализированной информации представлены в таблице 3.

Таблица 3. Объекты, показатели, методы исследований, а также объем полученной информации.

№ п/п	Перечень исследований	Объекты исследований	Методы исследований	Объем исследований
1.	Определение жирнокислотного состава	Подсолнечные масла 2018 г и 2019 г производства	Газовая хроматография	50 проб, 1 150 ед.инф.
2.	Определение перекисного числа	Подсолнечные масла 2018 г и 2019 г производства	Титрование с визуальной индикацией	168 проб, 168 ед.инф.
3.	Определение анизидинового числа	Подсолнечные масла 2018 г и 2019 г производства	Спектрофотометрия	99 проб, 99 ед.инф.
4.	Изучение динамики окисления методом ИК-спектроскопии	Подсолнечные масла 2018 г и 2019 г производства	ИК-спектроскопия с преобразованиями Фурье	99 проб, 5 352 ед. инф.
5.	Определение летучих веществ масел методом ТФМЭ с ГХ/МС А) подбор волокна Б) подбор условий экстракции В) изучение летучих веществ	Подсолнечные масла 2017-2019 гг. производства	ТФМЭ-ГХ-МС ТФМЭ-ГХ-МС/ПИД, моделирование (РЦКП) ТФМЭ-ГХ-МС/ПИД	16 проб, 1 312 ед. инф. 31 проба, 2 016 ед инф. 51 проба, 2 732 ед инф.
6.	Определение содержания технологических контаминантов эфиров 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в пищевых маслах, жирах и масложировых продуктах А) Разработка метода определения Б) Анализ образцов	Подсолнечные масла 2018 г и 2019 г производства. Масла, жиры и масложировые смеси различной природы	ГХ-МС/МС	345 проб, 432 ед.инф. 123 пробы, 2 478 ед.инф.
Итого:				15 739 ед.инф.

Определение жирнокислотного состава проводили методом переэтерификации в кислой среде по ГОСТ 31665-2012 и ГОСТ 31663-2012 с

некоторыми изменениями в целях получения количественных данных. Количественное измерение проводили по [Golay P.-A., Dong Y., 2012] методом внутреннего стандарта с использованием ундекановой кислоты и глицерил триридекановата. Измерения проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 7890A с пламенно-ионизационным детектором (ПИД) (США).

Перекисное число определяли по ГОСТ 51487-99 методом йодометрического титрования с визуальной индикацией.

Анизидиновое число измеряли по ГОСТ 31756-2012.

ИК-спектры снимали при помощи ИК-Фурье спектрометра TENSOR (Bruker Corporation, Германия), оснащённого приставкой для анализа методом нарушенного полного внутреннего отражения (спектроскопия внутреннего отражения). В качестве итогового спектра образца были использованы усреднённые данные по 64-м измерениям в диапазоне частот от 4000 см^{-1} до 574 см^{-1} в трёх повторностях.

Летучие вещества подсолнечных масел изучали методом ТФМЭ-ГХ-МС/ПИД с применением волокон Supelco SPME StableFlex Fiber Assortment Kit (США). Для этого экспериментально проводили: а) подбор наиболее подходящего волокна; б) подбор оптимальных условий для ТФМ-экстракции методом планирования эксперимента (РЦКП). Основной эксперимент проводили в подобранных условиях Десорбцию, разделение и идентификацию аналитов осуществляли на газовом хроматографе 7890A с квадрупольным масс-селективным детектором 5975С и ПИД (Agilent Technologies, США). Для всех идентифицированных соединений проводился поиск класса опасности по СанПиН 1.2.3685-21 и списку канцерогенов и возможных канцерогенов человека МАИР [IARC Monographs, 1965. Last updated: 2021-07-22].

Определение содержания эфиров 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола проводили по разработанной и аттестованной в ходе работы методике по [МУК 4.1.3547-19, 2019] на газовом хроматографе 7890A с тройным квадрупольным масс-селективным детектором 7000С (Agilent Technologies, США).

Статистические расчёты и обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения OriginPro 2018 SR1 b9.5.1.195. Построение РЦКП и его дисперсионный анализ (ANOVA) осуществляли в Design Expert® Version 12 Trial. Графические иллюстрации создавали в OriginPro 2018 SR1 b9.5.1.195, Microsoft Excel® 2016 MSO (16.0.12527.21930) и Design Expert® Version 12 Trial.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Исследование окисления подсолнечных масел различной степени очистки.

Оценку окислительных изменений подсолнечных масел разной степени очистки начинали со сравнения *состава ЖК*. Было установлено, что с увеличением степени очистки масла росло количество насыщенных и мононенасыщенных ЖК с 107 мг/г до 113 мг/г и с 211 мг/г до 219 мг/г соответственно, а также транс-изомеров жирных кислот (ТЖК) за счет изомеров линолевой (но не олеиновой) кислоты, а именно 9-*цис*-, 12-*транс*-линолевой C18:2, 9-*транс*-, 12-*цис*-линолевой C18:2 и C18:2 9-*транс*-, 12-*транс*

изо-октадекадиеновой. Сумма полиненасыщенных линолевой С18:2 и α -линоленовой С18:3 кислот наоборот, снижалась с 595 мг/г до 579 мг/г. (рис. 1).

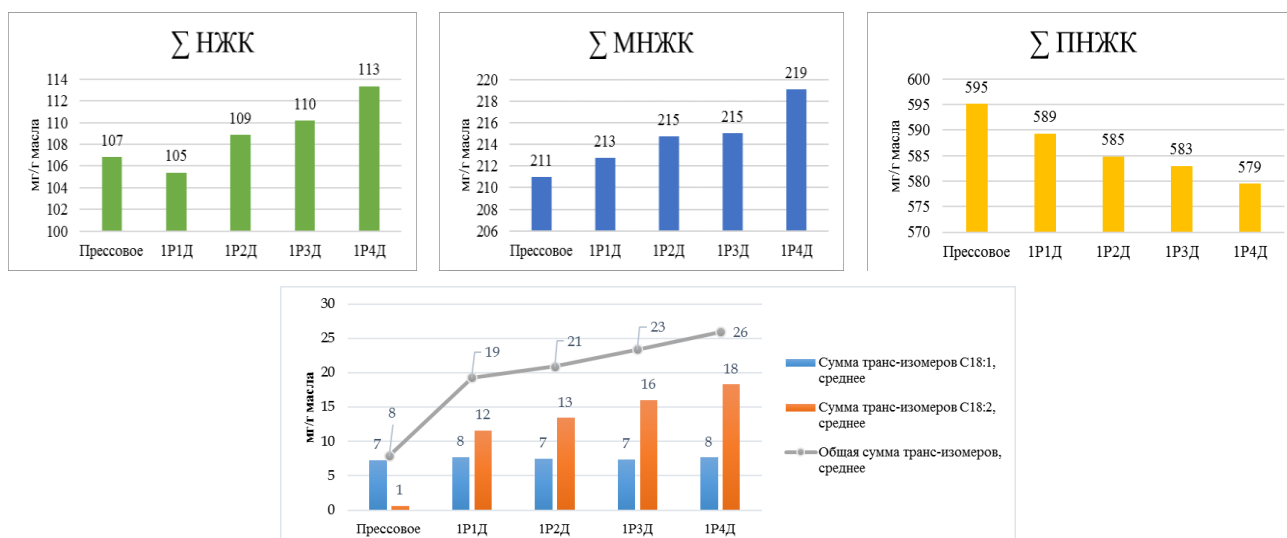


Рис.1 Сравнение суммарного содержания жирных кислот по группам в зависимости от степени очистки подсолнечных масел (2019 г производства), n=2.

Анализ динамики состава жирных кислот в течение 6-8 недель хранения в условиях нефорсированного окисления показал, что после одной дезодорации не происходит статистически значимого изменения в суммарном содержании НЖК, МНЖК, ПНЖК и транс-изомеров ЖК. Однако в маслах после двух и трёх дезодораций происходило статистически значимое увеличение содержания МНЖК: $p=0,03$ (при $\alpha=0,05$) и $p=0,02$ (при $\alpha=0,05$) соответственно.

Измерение перекисного и анизидинового чисел показало, что первая дезодорация снижает содержание веществ, реагирующих с йодом и *p*-анизидином. Последующие дезодорации практически не изменяли содержание перекисных соединений, в то время как содержание альдегидов и кетонов по данным АЧ заметно росло (рис. 3 верхний).

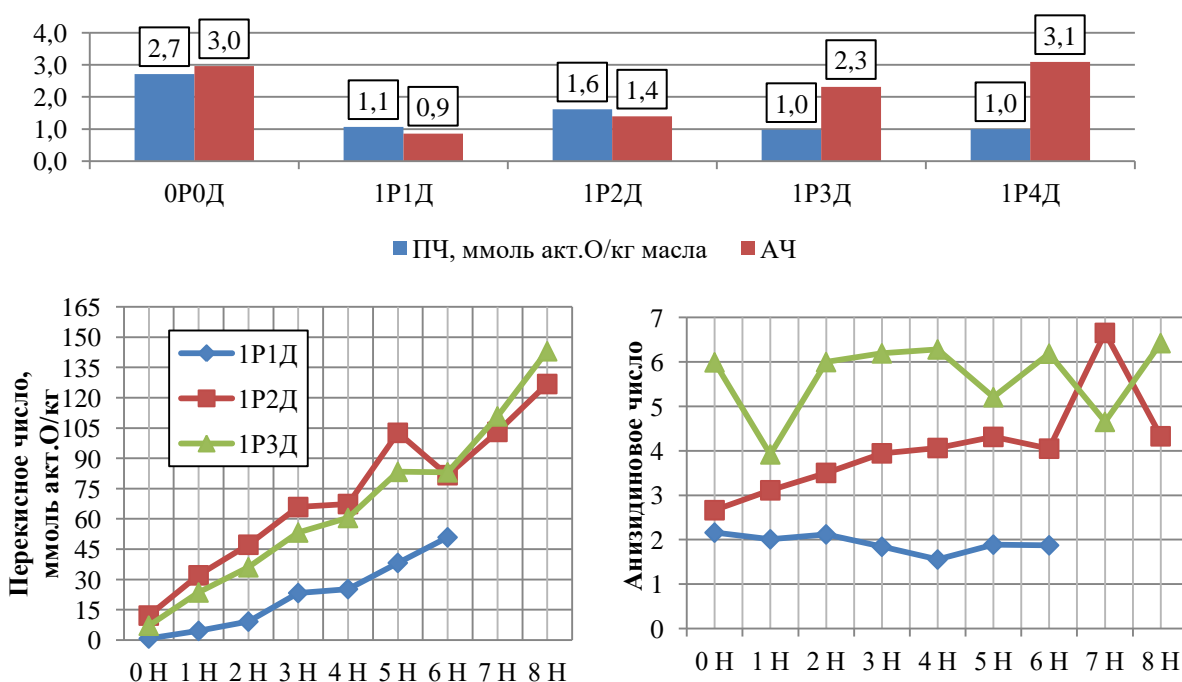


Рис.2 Динамика перекисного и анизидинового чисел подсолнечных масел различной степени очистки без и при хранении в течение 6-8 недель, n=3.

Перед началом хранения в климатической камере начальные значения ПЧ в маслах 1P1Д-1P3Д были 0,8, 12,1 и 7,1 мэкв. акт. О/кг масла соответственно (норматив по ТР ТС 024/2011 10 мэкв. акт. О/кг масла). В процессе хранения в масле 1P1Д накапливалось достоверно меньше ($p < 0,001$) первичных продуктов окисления, чем в маслах после двух и трёх дезодораций (рис. 2 левый снизу). Однако скорость прироста перекисных соединений в масле 1P1Д после 1 недели хранения составила 631% против 296% и 331% в маслах 1P2Д и 1P3Д соответственно. При этом не наблюдалось значимого накопления моно- и диненасыщенных альдегидов и кетонов в исследованных подсолнечных маслах в процессе хранения (рис. 2 правый снизу).

Данные ИК-спектроскопии показали, что с увеличением глубины очистки появляется тенденция к уменьшению интенсивности колебаний полос двойных связей (например, при 3009 см^{-1} , 1653 см^{-1} и 1648 см^{-1}), а также сдвиг полосы поглощения, характерной для деформационного колебания изолированных *транс*, *транс*-двойных связей ($-\text{C}=\text{CH}-$): с 963 см^{-1} до 965 см^{-1} . При этом интенсивность этой полосы росла с 0,017 ATR Units до 0,021 ATR Units.

Анализ подсолнечных масел разной степени очистки в процессе хранения позволил выявить рост интенсивности полосы при $984\text{--}986\text{ см}^{-1}$, характерной для, вероятно, конъюгированных *транс*, *транс*- и *цис*, *транс*- двойных ($-\text{C}=\text{CH}-$) связей. Ее интенсивность увеличивалась строго с увеличением времени хранения масла в климатическом шкафу, и это было характерно для всех 3 видов исследованных масел. Например, в масле 1P1Д интенсивность полосы при 986 см^{-1} выросла с 0,011 ATR Units (1Д4Н) до 0,015 ATR Units (1Д6Н), в масле 1P2Д с 0,008 ATR Units до 0,015 ATR Units, в масле 1P3Д интенсивность при 984 см^{-1} росла с 0,009 ATR Units до 0,016 ATR Units (рис.3).

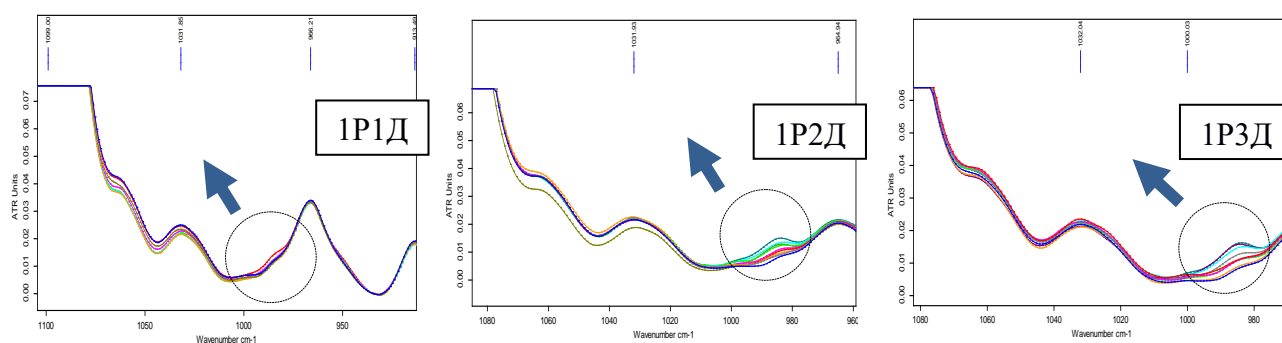


Рис. 3 Изменение интенсивности и сдвиг полосы поглощения при $984\text{--}986\text{ см}^{-1}$ в течение 6-8 недель хранения в климатическом шкафу.

Стоит отметить, что методом газовой хроматографии статистически значимых изменений ТЖК в этих маслах обнаружить не удалось.

Подбор условий экстракции *летучих веществ* начинали с анализа сорбирующей способности четырёх коммерчески доступных волокон для твердофазной микроэкстракции: 65 мкм полидиметил/дивинилбензол (П/Д), 50/30 мкм дивинилбензол/карбоксен/полидиметилсилоксан (Д/К/П), 85 мкм карбоксен/полидиметилсилоксан (К/П), 85 мкм полиакрилат (П).

В таблице 4 приведены количество идентифицированных соединений профиля летучих веществ форсировано окисленных масел, а также сумма их площадей в зависимости от типа волокна (для удобства восприятия значения представлены в виде единиц интенсивности ($abundance$)* 10^{-8} , $\sum_{\text{площадей}} * 10^{-8}$).

Таблица 4. Количество идентифицированных летучих соединений и сумма их площадей* в зависимости от типа волокна и продолжительности окисления.

	3 дня окисления				6 дней окисления			
	К/П	Д/К/П	П/Д	П	К/П	Д/К/П	П/Д	П
	Сумма площадей идентифицированных летучих соединений, $\sum_{\text{площадей}} * 10^{-8}$							
прессовое	2,70	0,37	0,02	0,02	14,12	1,13	0,38	0,01
1P1Д	0,56	0,37	0,25	0,12	2,12	0,89	0,42	0,01
4P4Д	0,66	0,28	0,26	0,01	2,35	1,18	0,49	0,02
Количество идентифицированных соединений								
прессовое	48	57	19	19	46	28	14	2
1P1Д	59	59	19	13	28	27	19	2
4P4Д	66	59	45	17	28	27	20	3

*Величины площадей получены с помощью МС-детектора.

Исходя из полученных данных, все волокна можно расположить в порядке уменьшения их сорбирующей способности для выбранных условий экстракции независимо от степени очистки масел и продолжительности окисления: К/П > Д/К/П > П/Д > П. Стоит отметить, что волокна К/П и Д/К/П сорбировали в несколько раз больше соединений, чем волокна П/Д и П.

На рис. 4 представлены диаграммы распределения сумм площадей летучих соединений с разными функциональными группами в общей сумме площадей идентифицированных соединений в зависимости от типа волокна для масел после 3 дней окисления.

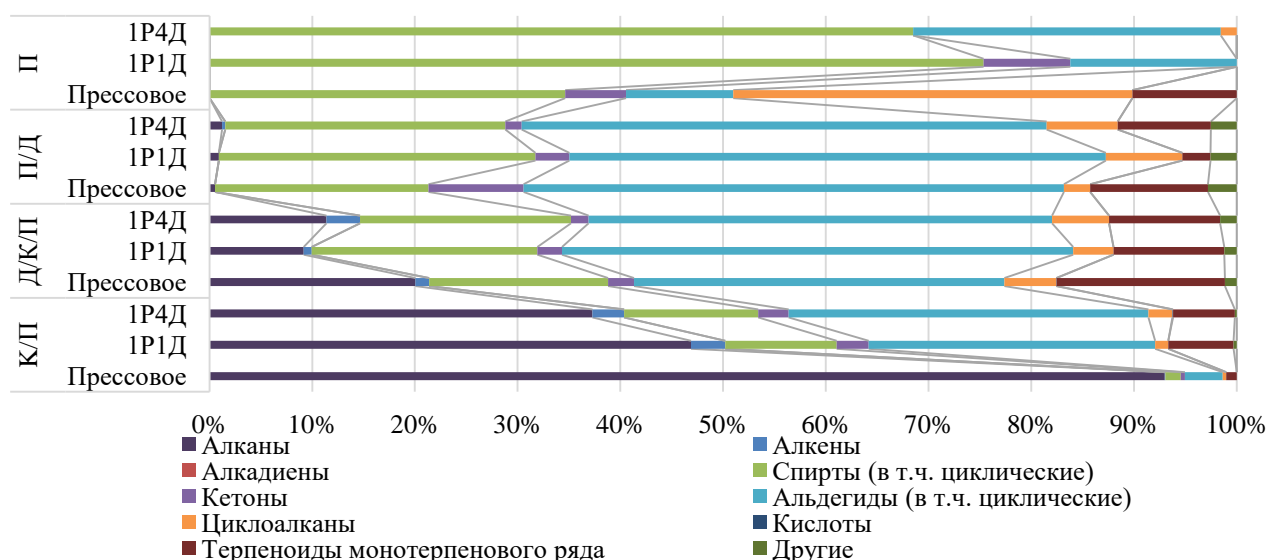


Рис.4 Распределение сорбированных летучих соединений подсолнечного масла по функциональным группам для разных волокон после 3-х дней интенсивного окисления, % от $\sum_{\text{площадей}} * 10^{-8}$ (данные МСД).

Из рисунка видно, что групп соединений были сорбированы волокнами К/П, Д/К/П и П/Д. Однако, при сравнении разнообразия типов соединений

среди масел разной степени очистки после 3 и 6 дней окисления наиболее стабильные результаты показало волокно Д/К/П, которое и было выбрано для дальнейшей работы.

Для оптимизации условий экстракции летучих веществ было отобрано 48 соединений, в число которых вошли продукты окисления, вещества с установленным классом опасности и мажорные соединения подсолнечных масел. Оптимизации подвергали температуру нагрева образца ($T_{\text{эксп}}$, 20-60 °С), время экспозиции волокна над образцом ($t_{\text{эксп}}$, 10-50 мин), температуру инжектора ГХ ($T_{\text{дес}}$, 210-270 °С) и время десорбции ($t_{\text{дес}}$, 1-9 мин). Согласно матрице планирования был проведен 31 анализ в рандомизированном порядке. На рис.5 показаны полученная поверхность отклика по общему количеству летучих соединений и построенный на ее основе профиль желательности для максимально возможного извлечения летучих компонентов масел.

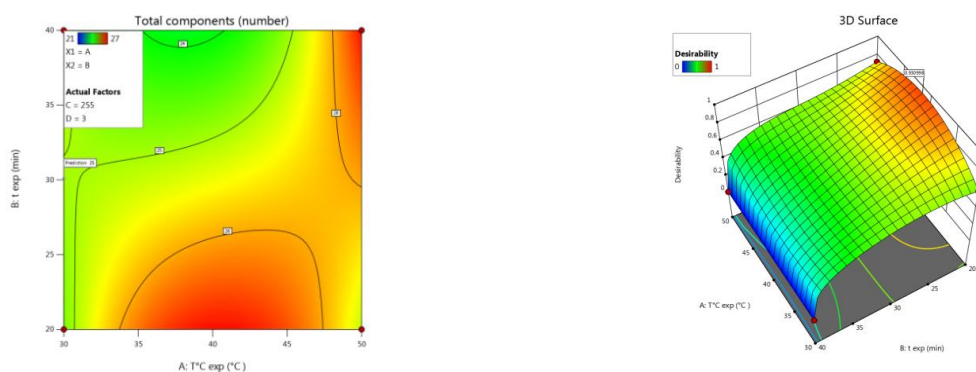


Рис.5 Поверхность отклика количества летучих компонентов масел (слева) и профиль желательности для максимально возможного извлечения летучих компонентов масел (справа). Шкалы нормализованы от синего (минимальное значение) к красному (максимальное значение).

Согласно полученным графикам, оптимальные условия для извлечения анализов методом ТФМЭ в пределах изученного диапазона факторов составили: $T_{\text{эксп}}$, 40 °С, $t_{\text{эксп}}$, 20 мин, $T_{\text{дес}}$, 255 °С, $t_{\text{дес}}$, 3 мин.

Характеристика летучих веществ подсолнечных масел разной очистки методом ТФМЭ с ГХ-МС/ПИД

Рисунок 6 демонстрирует хроматограммы компонентов, которые были экстрагированы из фазы над неокисленными прессовым подсолнечным маслом и маслом, которое было рафинировано и дезодорировано 4 раза (1Р4Д). Следует отметить заметную разницу в спектре летучих соединений неочищенного и очищенного образцов: так, аромат прессового масла (рис. 6 сверху) составляла большая группа разных классов соединений, основными из которых являлись производные терпена (α -пинен и сабинен), кислоты (уксусная и пропановая), спирты (этанол, 1-пропанол, 1-гексанол).

Хроматограмма масла 1Р4Д (рис. 6 снизу) приведена в качестве примера, характеризующего в целом все исследованные очищенные масла (1Р1Д-1Р4Д). Аромат этих масел составляли практически всегда одни и те же соединения: алканы (пентан, гексан) и альдегиды (пентаналь, гексаналь, (E)-2-гептеналь).

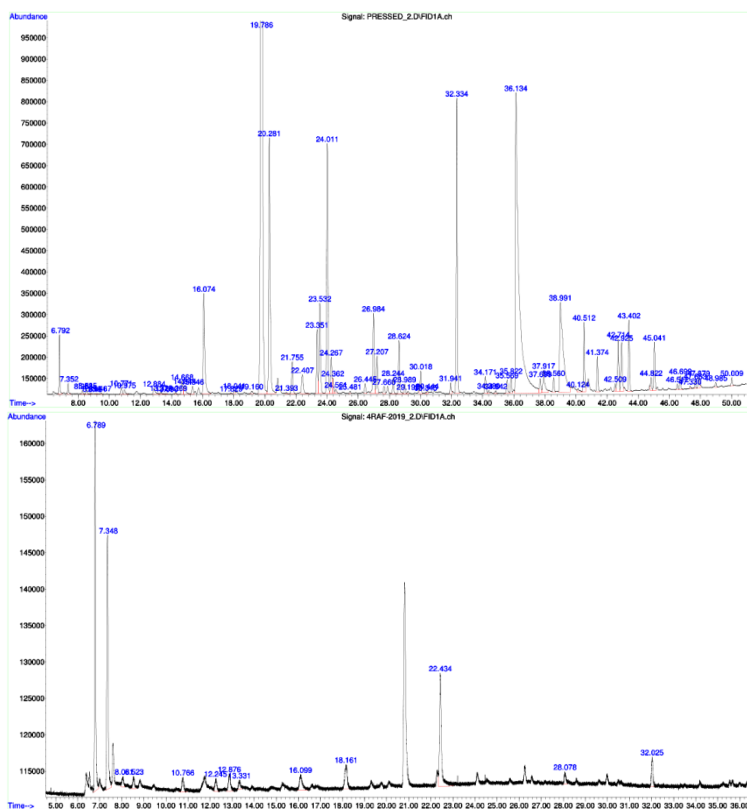


Рис. 6 Хроматограммы профиля летучих веществ подсолнечных масел прессового (сверху) и 1Р4Д (снизу), произведённых в 2019 году.

Различия заключались только в площадях пиков, так например суммарная площадь альдегидов росла с увеличением глубины очистки масел (рис. 7).

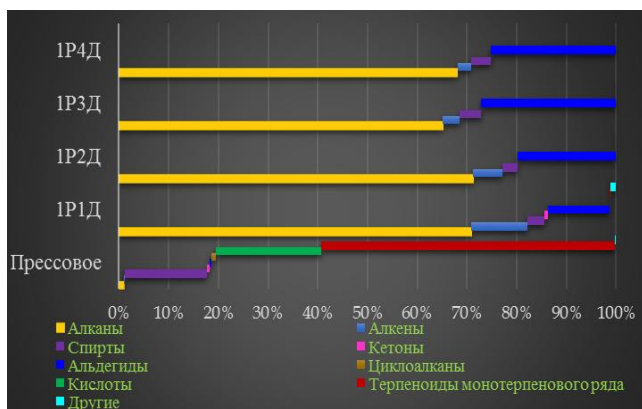


Рис. 7 Соотношение групп летучих веществ подсолнечных масел в общей сумме идентифицированных летучих веществ.

Интересно, что найденные в очищенных маслах альдегиды не обнаруживались в прессовом масле: его основными альдегидами были 2-пропеналь, 2-метилбутаналь и (Е,Е)-2,4-декадиеналь. Ацетальдегид, который был найден среди альдегидов всех очищенных масел, имеет статус «возможных канцерогенов человека» (группы 2А и 2В соответственно).

Исследование летучих веществ масел 1Р1Д-1Р3Д при хранении в климатической камере показало наличие разных соединений в маслах разной очистки. Так, в маслах 1Р2Д и 1Р3Д были обнаружены новые, по сравнению с маслом 1Р1Д соединения, такие как 2-гептанон, 2-октанон, 1-октен-3-он, (Е)-3-октен-2-он, (Е,Е)-3,5-октадиен-2-он, 1,2-эпоксигептан, а также несколько α,β -ненасыщенных альдегидов – (Е,Е)-2,4-гептадиеналь, 2,4-октадиеналь, (Е,З)-2,4-декадиеналь, (Е,Е)-2,4-декадиеналь. Стоит отметить, что гомолог 1,2-эпоксигептана, 1,2-эпоксибутан, отнесён к группе 2В «возможных канцерогенов человека» МАИР.

С увеличением срока хранения масел в них росло содержание насыщенных, мононенасыщенных альдегидов и 1,2-эпоксигептана (рис. 8). Статистически значимые отличия в относительном количестве и скорости прироста в этих группах летучих веществ наблюдались между маслом 1Р1Д и маслами 1Р2Д и 1Р3Д ($p < 0,05$).

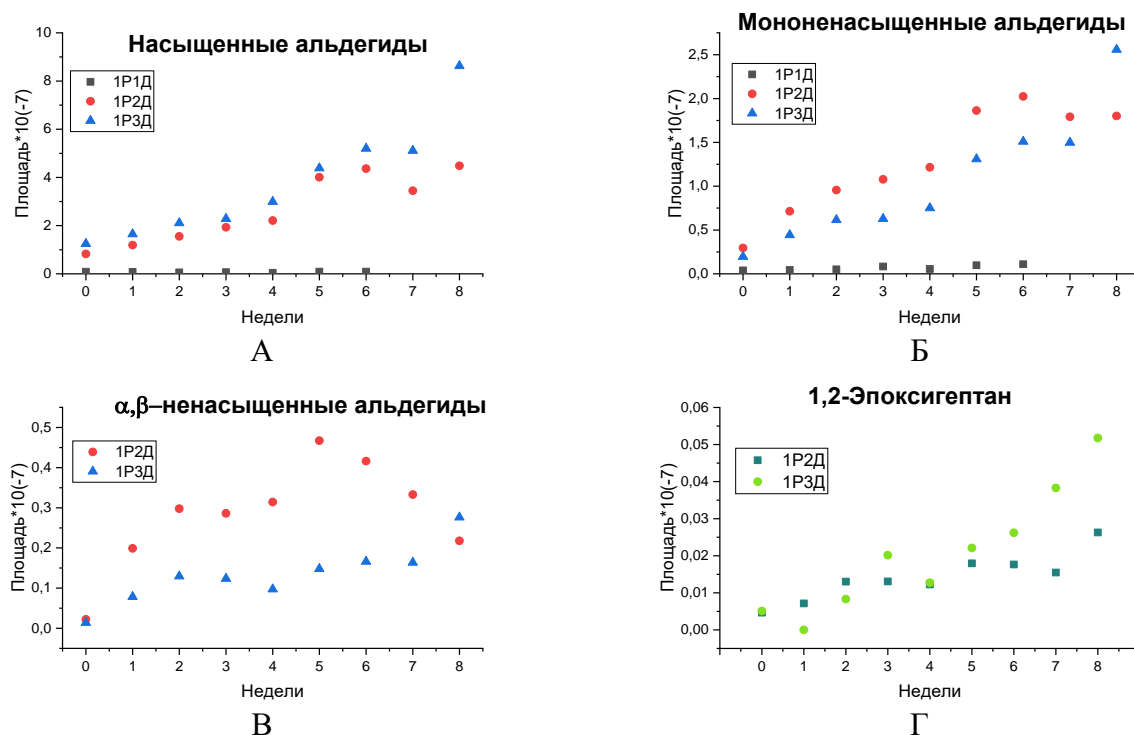


Рис. 8 Сравнение содержания различных альдегидов и 1,2-эпоксигептана в маслах 1Р1Д, 1Р2Д и 1Р3Д в процессе хранения в климатической камере. Значения представлены в виде площадей пиков $\cdot 10^{-7}$

В группе α, β -ненасыщенных не имелось такой четкой тенденции; наиболее важно отметить здесь отсутствие данных соединений в маслах 1Р1Д в течение всего периода хранения.

В Таблице 5 представлено сравнение площадей летучих веществ с установленным классом опасности и/или канцерогенности по МАИР в зависимости от степени очистки масел и времени их хранения в климатической камере. На конец срока хранения в масле 1Р3Д содержалось 20 веществ с установленным классом опасности, в масле 1Р2Д - 18, в масле 1Р1Д – 9 таких веществ. Площади всех этих веществ, за исключением пентана, гексана и 1-бутанола, росли с увеличением срока хранения масел.

Таблица 5. Динамика летучих веществ подсолнечных масел разной степени очистки, имеющих классы опасности, в зависимости от срока хранения в климатической камере.

Название соединения	СанПиН 1.2.3685-21	МАИР	Площади летучих веществ по ПИД $\cdot 10^{-7}$					
			Масло 1Р1Д		Масло 1Р2Д		Масло 1Р3Д	
			0 нед	6 нед	0 нед	8 нед	0 нед	8 нед
Пентан	4		<0,01	0,01	2,78	0,46	2,56	0,21
Гексан	4		1,11	0,95	0,43	0,27	0,68	0,22
Ацетальдегид	3	2В	0,01	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,02
Пропаналь	3		-	-	-	-	<0,01	0,07
Бутанал	3		-	-	0,01	0,04	<0,01	0,05

Этиловый спирт	4		0,05	0,04	<0,01	0,08	<0,01	0,04
Пентаналь	4		0,03	0,04	0,14	0,41	0,11	0,65
Гексаналь	2		0,05	0,05	0,63	3,98	1,09	7,64
1-бутанол	3		-	-	0,01	<0,01	0,01	<0,01
1,2-Эпоксигептан	(1-3)*	(2В)*	-	-	<0,01	0,03	0,01	0,05
2-гептанон	-		-	-	0,03	0,10	0,05	0,19
Гептаналь	3		-	-	0,02	0,03	0,02	0,10
Лимонен	4	3	<0,01	0,08	0,01	0,03	0,01	0,06
1-пентанол	3		0,01	0,02	0,05	0,18	0,03	0,26
2-октанон	4		-	-	0,01	0,02	0,02	0,04
Октаналь	2		-	-	-	-	0,01	0,05
1-гексанол	3		-	-	<0,01	<0,01	<0,01	0,07
Нонаналь	2		-	-	0,01	0,01	0,01	0,06
2,4-гептадиеналь	-	(2В)**	-	-	<0,01	0,05	<0,01	0,11
Гексановая кислота	3		0,02	0,08	0,05	0,34	0,15	1,38

* в зависимости от изомера, к группе 2В возможных канцерогенов человека отнесен изомер 1,2-эпоксибутан.

** к 2В отнесен изомер 2,4-гексадиеналь

Оптимизация и метрологическая оценка методики определения эфиров 3-МХПД, 2-МХПД и эфиров глицидола методом длительной щелочной перэтерификации с ГХ/МС-МС

В качестве основы для создания метода был взят стандарт ISO 18363-2:2018, который на момент начала работы по данной теме (2019 год) в России утверждён не был. В процессе работы со стандартной методикой стала очевидной необходимость внесения следующих изменений относительно исходной процедуры (табл. 6):

Таблица 6. Сравнение стандартного и нового вариантов подготовки проб и проведения измерений. [Макаренко М.А., Малинкин А.Д., Бессонов В.В., 2021].

ISO 18363-2:2018	Предложенный вариант	Результат
Растворы стандартов 1,3-дипальмитат-2-МХПД-D5 и стандарта 1,2-дипальмитат-3-МХПД-D5 готовятся отдельно	Готовят совместный раствор стандартов 1,3-дипальмитат-2-МХПД-D5 и 1,2-дипальмитат-3-МХПД-D5	Уменьшение времени подготовки проб
3 раза по 600 мкл	2 раза по 900 мкл	Уменьшение времени подготовки проб
Моноквадруполь, SIM-режим регистрации ионов	Тройной квадруполь, MRM-режим регистрации ионов	Повышение селективности
Без использования градуировки	С построением градуировочных прямых	Корректировка показаний детектора

Для работы в MRM-режиме нами были подобраны пары ионов предшественник-фрагмент для детектирования аналитов и их дейтерированных аналогов. В результате использования MRM-режима повысилась селективность анализа и увеличилось соотношение сигнал/шум практически для всех стандартов и аналитов по сравнению с SIM-режимом.

Помимо этого, было решено ввести анализ контрольной пробы в каждой последовательности неизвестных проб. Вместе с использованием градуировочных прямых это позволило повысить точность анализа.

Проведение метрологической оценки методики по ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002, РМГ 61-2010, РМГ 76-2014 позволило получить следующие результаты (табл. 7):

Таблица 7. Метрологическая оценка методики определения 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола методом ГХ/МС-МС.

		3-МХПД	2-МХПД	Глицидол
Диапазон определяемых концентраций	мг/кг	0,3-30,0	0,3-30,0	0,3-30,0
Точность (границы относительной погрешности)	$\pm\delta, \%$ ($P=0,95$)	50	35	69
Повторяемость (среднеквадратичное отклонение повторяемости)	$\sigma_p, \%$	9,4	9,2	9,2
Средняя полнота извлечения вещества	%	113,6	107,9	87,5

Исследование содержания эфиров 3-МХПД и глицидола в различных пищевых маслах и жирах.

В этом разделе автореферата не представлены данные по исследованию содержания сложных эфиров 2-МХПД с жирными кислотами, поскольку свидетельств токсичности 2-МХПД для здоровья человека на сегодняшний день недостаточно. Тем не менее, эти данные приведены в соответствующем разделе полного текста диссертации.

В период 2019-2021 годов было исследовано 86 образцов различных пищевых масел, жиров и их фракций, подвергавшихся различной обработке, а также масложировых смесей и эмульсионных продуктов. Основные группы исследованных масел представлены на рисунке 9.

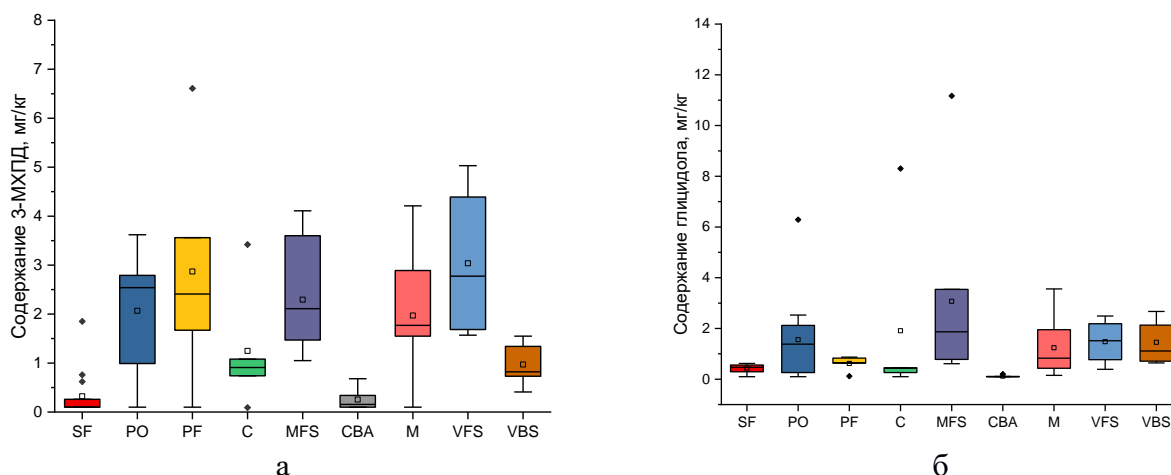


Рис. 9 – Содержание в пересчёте на свободную форму в разных типах масел, мг/кг масла. Рисунок А – 3-МХПД, Б – Глицидол. SF – подсолнечные масла, n=15, PO - пальмовые масла, n=13, PF – фракции пальмового масла, n=5, С – кондитерские жиры, n=5, MFS – заменители молочного жира, n=7, CBA – заменители какао масла разных типов, n=6, М – маргарины, n=11, VFS - спреды растительно-жировые, n=4, VBS - спреды растительно сливочные, n=5. Квадрат представляет собой диапазон Q25-Q75, длина усов 1,5*IQR (межквартильный диапазон), «—» - медиана, «□»- среднее, «*» - выбросы.

Наибольшее содержание 3-МХПД и глицидола было отмечено в составных жировых продуктах, к которым относятся кондитерские жиры, ЗМЖ и ЗМК: <0,10 мг/кг – 5,03 мг/кг, <0,10 мг/кг – 2,50 мг/кг и <0,10 мг/кг – 11,17 мг/кг соответственно. Содержание 3-МХПД и глицидола в пальмовых маслах и фракциях составило <0,10 – 6,61 мг/кг и <0,10 – 6,29 мг/кг соответственно. Содержание глицидола в подсолнечных маслах колебалось от <0,10 мг/кг до 0.62 мг/кг, содержание 3-МХПД – от <0,10 мг/кг до 1,85 мг/кг. В нерафинированных и оливковых и горчичных маслах эфиры монохлорпропандиолов и глицидола практически отсутствовали и на рисунке не представлены.

На основании полученных данных, а также открытых данных Росстата по потреблению растительных масел и масложировых продуктов населением России за 2018-2020 г.г. были рассчитаны ориентировочные уровни поступления эфиров 3-МХПД и глицидиловых эфиров в пересчете 3-МХПД и глицидол (таблица 8). Предельно допустимая нагрузка 3-МХПД (tolerable daily intake, TDI), установленная Европейским агентством по безопасности продуктов питания, составляет 2 мкг/кг м.т./сутки. Она соответствует количеству 3-МХПД, которое можно употреблять ежедневно в течение всей жизни без заметного риска для здоровья. Для оценки риска потребления глицидола и его эфиров считают т.н. предел воздействия (margin of exposure, MoE), который определяется как отношение между значением BMDL₁₀¹, и найденной величиной поступления канцерогена с пищей. Принято, что значения ниже 25000 MoE свидетельствуют о риске для здоровья.

Таблица 8. Приблизительная оценка поступления эфиров 3-МХПД и глицидиловых эфиров с растительными маслами и масложировыми продуктами населению России. Среднее содержание контаминантов в категории «растительные масла» считали по данным для подсолнечных, пальмовых и других монокомпонентных масел, а в категории масложировых продуктов – по данным для маргаринов и всех спредов.

	2018	2019	2020	Среднее содержание 3-МХПД	Среднее содержание глицидола
Потребление растительных масел в России по данным Росстата, кг/чел/год	9,90	9,80	9,70	1,05 мг/кг	0,80 мг/кг
Потребление растительных масел в России, г/чел/день	27,1	26,8	26,6		
Потребление масложировых продуктов в России по данным Росстата, кг/чел/год	0,8	0,8	0,8	1,85 мг/кг	1,35 мг/кг
Потребление масложировых продуктов в России, г/чел/день	2,2	2,2	2,2		
				TDI (3-МХПД)	MoE (глицидол)
Суммарное поступление 3-МХПД за счет растительных масел и масложировых продуктов рациона, мкг/кг м.т./сут для человека массой 65 кг	0,50	0,50	0,49	2	
Суммарное поступление глицидола за счет растительных масел и масложировых продуктов рациона, мкг/кг м.т./сут для человека массой 65 кг	0,38	0,38	0,37		
MoE, рассчитанная по суммарному поступлению глицидола за счет растительных масел и масложировых продуктов рациона, мкг/кг м.т./сут для человека массой 65 кг	6304	6368	6433		<25000

¹ BMDL₁₀ – представляет собой нижний доверительный предел эталонной дозы для увеличения частоты неблагоприятных эффектов для организма на 10 % при потреблении канцерогена.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии риска для здоровья, связанного с поступлением глицидиловых эфиров из монокомпонентных масел и масложировых продуктов рациона.

Содержание 2-МХПДЭ, 3-МХПДЭ и глицидиловых эфиров исследовали в подсолнечных маслах 2018 и 2019 гг. производства, которые последовательно подвергались дезодорации согласно таблице 1, результаты показаны на рис.10.

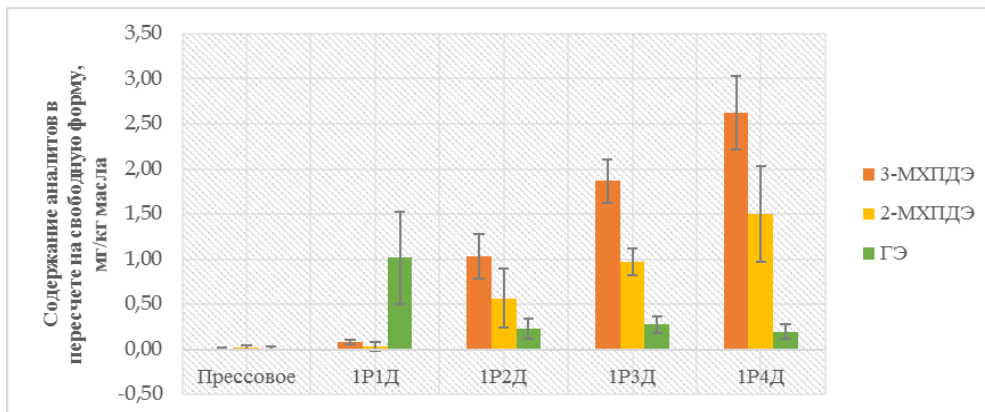


Рис. 10. Изменение содержания эфиров монохлорпропандиолов и глицидиловых эфиров в подсолнечных маслах в зависимости от количества циклов рафинации и дезодорации.

Из рисунка видно, что неочищенное подсолнечное масло не содержало исследуемых аналитов в достоверно обнаруживаемых концентрациях. Рафинация и дезодорация незначительно увеличили содержание монохлорпропандиолов и практически в 10 раз увеличили содержание глицидола - до $1,01 \text{ мг/кг} \pm 0,52 \text{ мг/кг}$. После второй дезодорации содержание 3-МХПД выросло до $1,03 \text{ мг/кг} \pm 0,25 \text{ мг/кг}$ и впоследствии продолжало постепенно расти до $1,87 \text{ мг/кг} \pm 0,24 \text{ мг/кг}$ (1P3Д) и $2,62 \text{ мг/кг} \pm 0,41 \text{ мг/кг}$ (1P4Д). Содержание глицидола же наоборот постепенно уменьшалось с глубиной очистки масла. Содержание 2-МХПД росло с количеством дезодораций аналогично 3-МХПД.

В связи с этим при наличии требования об обязательной обработке масел растительных после транспортировки наливом в ТР ТС024/2011 (минимум о проведении одной дезодорации), следует ограничить число возможных очисток масел и/или использовать для переработки и производства пищевых продуктов масла с низким содержанием предшественников эфиров МХПД.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что определение вторичных продуктов окисления (альдегидов, кетонов, эпоксидов и др.) предоставляет более подробную информацию для оценки окислительного статуса пищевых масел, чем традиционно определяемые перекисное и анизидиновое числа.

2. Установлено, что проведение дополнительных очисток пищевых подсолнечных масел методом дезодорации (более одной дезодорации) может повышать содержание в них вредных для здоровья человека соединений, таких как транс-изомеры жирных кислот, ненасыщенные альдегиды и эфиры монохлорпропандиолов, способствовать образованию потенциально канцерогенных веществ, например 1,2-эпоксибутана. С увеличением количества дезодораций в профиле летучих веществ подсолнечных масел

увеличивается количество соединений с установленным классом опасности по СанПиН 1.2.3685-21.

3. Установлено, что наибольший риск образования эфиров глицидола связан с первой дезодорацией растительного масла, поэтому для первой дезодорации должны быть соблюдены условия, снижающие риски образования этого канцерогенного вещества.

4. Установленный уровень глицидиловых эфиров в исследованных монокомпонентных маслах и масложировых продуктах, представленных на российском рынке, может свидетельствовать о наличии риска для здоровья при потреблении этих продуктов.

5. Твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ) с ГХ-МС/ПВД является наиболее информативным методом регистрации и идентификации летучих веществ, характеризующих аромат пищевых масел и жиров. Экспериментально определены оптимальные условия экстракции всего спектра летучих соединений с одновременным предотвращением возможного образования вторичных продуктов окисления.

6. Разработан метод определения содержания эфиров МХПД и глицидиловых эфиров в пищевых маслах, жирах и масложировых продуктах методом длительной щелочной переэтерификации с газовой хроматографией и тандемным масс-спектрометрическим детектированием. На основании этих данных разработана метрологически аттестованная методика с диапазоном определяемых концентраций 0,3 мг/кг - 30 мг/кг для каждого из аналитов. Точность измерения составила 50% для 3-МХПД, 35% для 2-МХПД и 69% для глицидола.

7. Исследовано содержание эфиров монохлорпропандиолов и эфиров глицидола в различных пищевых маслах и жирах. Установлено, что наибольшее содержание 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола было в составных жировых продуктах: <0,10 мг/кг – 5,03 мг/кг, <0,10 мг/кг – 2,50 мг/кг и <0,10 мг/кг – 11,17 мг/кг соответственно. Содержание 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в пальмовых маслах и фракциях составило <0,10 – 6,61 мг/кг, <0,10 – 2,69 мг/кг и <0,10 – 6,29 мг/кг. Содержание глицидола в подсолнечных маслах колебалось от <0,10 мг/кг до 0,62 мг/кг, содержание 3-МХПД – от <0,10 мг/кг до 1,85 мг/кг, а 2-МХПД – от <0,10 мг/кг до 0,67 мг/кг. В нерафинированных и оливковых и горчичных маслах эфиры монохлорпропандиолов и глицидола практически отсутствовали.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные результаты исследований позволили обосновать следующие рекомендации для предприятий-изготовителей и поставщиков масложировой продукции, органов и организаций Роспотребнадзора, также научно-исследовательских организаций, занимающихся изучением и/или экспертизой пищевой продукции:

1. Рекомендуется введение норматива по содержанию глицидиловых эфиров в пересчете на глицидол в готовой масложировой продукции, поступающей на российский рынок.

2. Рекомендуется ограничить суммарное количество дезодораций масложировой продукции до одной-двух, включая составные масложировые продукты и масла, транспортируемые наливом для предотвращения повышения содержания вредных для здоровья веществ, таких как эфиры монохлорпропандиолов, транс-изомеры жирных кислот и летучих соединений с установленным классом опасности по СанПиН 1.2.3685-21.

3. Производителям рекомендуется внедрять технологии снижения образования МХПДЭ и ГЭ при производстве масложировой продукции, в том числе оптимизировать условия хранения и очистки масел, жиров и масложировых смесей таким образом, чтобы свести к минимуму образование сложных эфиров монохлорпропандиолов и глицидиловых эфиров.

4. Рекомендуется проводить производственный и лабораторный контроль содержания МХПДЭ и ГЭ в готовой масложировой продукции.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

в ведущих журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России

1. Макаренко М.А., Малинкин А.Д., Бессонов В.В., Саркисян В.А., Кочеткова А.А. Продукты вторичного окисления пищевых масел и жиров. Оценка рисков для здоровья человека (Сообщение 1). Вопросы питания. 2018. Т.87. №6. С. 125-138.

2. Макаренко М.А., Малинкин А.Д., Боков Д.О., Бессонов В.В. Монохлорпропандиолы, глицидол и их эфиры в детском питании. Вопросы детской диетологии. 2019. Т. 17. №1. 38-48.

3. Макаренко М.А., Малинкин А.Д., Бессонов В.В., Боков Д.О. Определение эфиров монохлорпропандиола и глицидиловых эфиров методом длительной щелочной переэтерификации с газовой хроматографией с тандемным масс-спектрометрическим детектированием в пищевых растительных маслах и масложировых продуктах. Вопросы питания. 2020. Т. 89. № 6. С. 113-122.

4. Макаренко М.А., Малинкин А.Д., Бессонов В.В. Метод газовой хроматографии/тандемной масс-спектрометрии с длительной щелочной переэтерификацией для определения сложных эфиров монохлорпропандиолов и глицидола с жирными кислотами в пищевых растительных маслах и жирах. Гигиена и санитария. 2021 Т. 100. №6. С. 640-646.

в других изданиях

1. Sarkisyan V., Sobolev R., Frolova Y., Malinkin A., **Makarenko M.**, Kochetkova A. Beeswax Fractions Used as Potential Oil Gelling Agents // JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society. 2022. № 98 (3). PP. 281–296.

2. Frolova Y., Sarkisyan V., Sobolev R., **Makarenko M.**, Semin M., Kochetkova A. The Influence of Edible Oils' Composition on the Properties of Beeswax-Based Oleogels // Gels. 2022. № 1 (8). 17 P.

3. Макаренко М.А., Бессонов В.В., Малинкин А.Д., Саркисян В.А. Применение волокон различной природы в анализе летучих соединений подсолнечного масла различной степени очистки методом хэдспейс-твердофазной микроэкстракции с ГХ/МС // Актуальные вопросы

нутрициологии, биотехнологии и безопасности пищи материалы Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. 2017. С. 268-273.

4. Макаренко М.А., Малинкин А.Д., Кирбаева Н.В., Бессонов В.В. Определение эфиров монохлорпропандиолов и глицидола методом щелочной переэтерификации в пищевых маслах различного происхождения // Вопросы питания. 2018. №87 (S5). С. 261-262.

5. Макаренко М.А., Малинкин А.Д. Влияние количества дезодораций пищевого подсолнечного масла на содержание технологических контаминантов монохлорпропандиолов, глицидола и их эфиров // Сборник материалов 2 школы молодых учёных «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний». 2019. С. 56-59.

Список сокращений

2-МХПД – 2-монохлорпропандиол	ГЭ – глицидиловые эфиры (с жирными кислотами)
2-МХПДЭ – эфиры 2-монохлорпропандиола с жирными кислотами	Д – дезодорированное (масло)
3-МБПД – 3-монобромпропандиол	Д/К/П – волокно дивинилбензол/ карбоксен/ полидиметилсилоксан
3-МХПД – 3-монохлорпропандиол	ЖКС – жирнокислотный состав
3-МХПДЭ – эфиры 3-монохлорпропандиола с жирными кислотами	ЗМЖ (MFS) – заменитель молочного жира
МАИР (IARC) – Международное агентство по изучению рака (International Agency for Research on Cancer)	ЗМК (CBA) – заменитель масла какао
М – маргарины	К/П – волокно карбоксен/ полидиметилсилоксан
MRM – режим мониторинга выбранных реакций	Н – нерафинированное (масло)
PF – фракции пальмового масла	О – отбеленное (масло)
SF – подсолнечные масла	П – волокно полиакрилат
SIM – режим мониторинга выбранных ионов	П/Д – волокно полидиметилсилоксан/ дивинилбензол
БГТ – бутилгидрокситолуол	ПМ (PO) - пальмовые масла
В – вымороженное (масло)	ПЧ – перекисное число
ГП – глицидил пальмитат	Р – рафинированное (масло)
ГХ/МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием	РЖС (VFS) – растительно-жировой спред
PF – фракции пальмового масла	РЦКП – ротатабельный центральный композиционный план
SF – подсолнечные масла	С – кондитерские жиры
SIM – режим мониторинга выбранных ионов	СРС (VBS) – сливочно-растительный спред
БГТ – бутилгидрокситолуол	ТФМЭ – твердофазная микроэкстракция
В – вымороженное (масло)	Ф – фильтрованное (масло)
ГП – глицидил пальмитат	ФБК – фенилборная кислота
ГХ/МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием	ХО – холодный отжим
ГХ/МС-МС – газовый хроматограф с tandemным масс-спектрометрическим детектированием	ЭЖП – эмульсионные жировые продукты
ГХ/ПВД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием	ИQR – межквартильный интервал (interquartile range)