

УДК 544.72,665.372

І.Г. Радзівська, О.П. Мельник, В.М. Пасічний, А.І. Маринін

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
ФОСФАТИДИЛХОЛІНУ

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

При розробці гетерогенних харчових систем, що характеризуються межею поділу рідина-рідина, використовують поверхнево-активні речовини (ПАР), які знижують поверхневий натяг та сприяють стійкості емульсій. Поширеною харчовою добавкою є фосфатидилхолін, який широко використовується в технологіях емульсійних продуктів. При цьому його фізико-хімічні властивості остаточно не вивчені, а точні характеристики поверхнево-активних властивостей на сьогоднішній день невідомі. В роботі досліджено властивості поверхневого шару фосфатидилхоліну, одержаного ступеневою екстракцією з фосфатидного комплексу курячих яєць, соняшникової і соєвої олії. За величинами граничної адсорбції, товщини адсорбційного шару та посадкової площі однієї молекули доведено ідентичність поверхнево-активних властивостей досліджуваних ПАР, одержаних з сировини як тваринного, так і рослинного походження при утворенні емульсій прямого типу. Методом ЯМР спектроскопії на ядрах ^{31}P встановлено, що між досліджуваними зразками немає суттєвої різниці у груповому та жирнокислотному складах (в межах $\pm 0,5\%$). Розраховано величину гідрофільно-ліпофільного балансу фосфатидилхоліну, що становить 6,475, і доведено його належність до групи амфотерних емульгаторів емульсій прямого типу. Встановлено концентрацію структурних перетворень на рівні 0,3%, що дозволяє одержати стабільні емульсії олія-вода без застосування додаткових співемульгаторів. Одержані дані дозволяють точно підбирати склад багатоконпонентних стабілізаційних композицій та ефективно керувати стійкістю структурованої системи.

Ключові слова: фосфатидилхолін, поверхневий натяг, ^{31}P ЯМР спектри, гідрофільно-ліпофільний баланс (ГЛБ), міцелоутворення.

DOI: 10.32434/0321-4095-2019-127-6-170-176

Вступ

Однією з найбільш популярних сучасних харчових добавок є фосфоліпіди, що характеризуються унікальним поєднанням фізіологічно активних і технологічних властивостей.

Фосфоліпіди – це складні ефіри гліцерину і жирних кислот, що містять фрагмент фосфорної кислоти нітрогеновмісні групи (рис. 1). Речовини, відомі під назвою «фосфоліпіди», складаються з окремих фракцій: холіну, етаноламіну, інозиту, серину та інших полярних ліпідів. До складу фосфоліпідів входять насичені або ненасичені жирні кислоти, які містять від 10–12 до 26–28 атомів карбону, тобто молекула є дифільною і складається з вуглеводневого радикала і полярної гідрофільної групи [1,2].

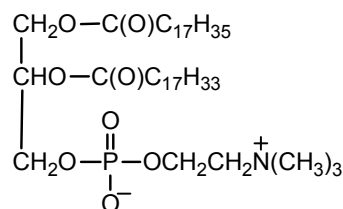


Рис. 1. Хімічна формула дістеарилфосфатидилхоліну

Фосфоліпіди стали невід'ємним рецептурним компонентом широкого спектра харчових продуктів: водно-жирових емульсій, кондитерських виробів, швидкорозчинних напоїв, сумішей для дитячого харчування, морозива, твердих жирів, м'ясних фаршів, тощо. Завдяки своїм

багатофункціональним властивостям, вони використовуються як емульгатори, антирозбризувачі, диспергуючі агенти, модифікатори в'язкості та інгредієнти функціональних харчових продуктів [2,3].

Основним природним джерелом фосфоліпідів є продукти, що містять велику кількість жиру: яйця, м'ясо, печінка, арахіс, деякі овочі і фрукти. В промисловості вони видобуваються з відходів виробництва рослинних олій, переважно соєвої і соняшникової.

Слід зазначити, що технологічний термін «фосфоліпід» – синонім слова «лецитини». Лецитинами часто називають всі холіновмісні фосфоліпідні, проте, з точки зору хімічної будови речовини, термін «лецитин» слід використовувати тільки стосовно фосфатидилхоліну (ФХ). Очевидно, що для ефективного застосування фосфатидилхоліну в технологічних процесах харчової промисловості та в якості біологічно-активної добавки у профілактичній медицині необхідно глибоке розуміння його поверхнево-активних властивостей.

Незважаючи на широке застосування фосфоліпідів у різних галузях промисловості, їх властивості до кінця не вивчено. Остаточо не встановлено колоїдно-хімічну поведінку та поверхневі властивості молекул ФХ, зокрема при одержанні з різних сировинних джерел. Вивчення таких характеристик дозволить обґрунтувати мінімальну кількість добавки, необхідної для одержання стабільної емульсії.

Метою роботи було дослідження поверхнево-активних властивостей ФХ за величиною міжфазного натягу та характеристиками поверхневого шару на межі поділу фаз олія–вода для управління стійкістю дисперсних систем.

Методика експерименту

Досліджено сировину різного походження – одержану з фосфатидів соєвої, соняшникової олій та з жовтка курячого яйця.

ФХ різного походження ізолювали за методикою Оганесяна та Магонова [4], сутність якої полягає в попередній екстракції лецитину при низьких температурах (–18...–20°C) ацетоном. Одержаний екстракт піддають багаторазовому очищенню етанолом і ацетоном. Після видалення розчинників і упарювання готовий продукт являє собою однорідну масу щільної консистенції жовтого кольору, легко розчинну в етанолі, хлороформі, помірно – в жирних оліях і практично нерозчинну у воді і ацетоні. Для виділення ФХ з групового складу одержаного лецитину використовували метод тонкошарової хромато-

графії [5,6] з рухомою фазою хлороформ–етанол (39:15) на пластинках «Сорбфіл-УФ-254».

Міжфазний натяг визначали сталагмометричним методом. Метод ґрунтується на фіксації моменту відриву краплі, яка витікає з круглого отвору сталагмометра, коли вага краплі дорівнює силі поверхневого натягу. При цьому молекули ФХ самовільно накопичуються на межі поділу фаз, що приводить до зниження поверхневого натягу. Молекули завжди орієнтуються так, щоб їх взаємодія з двома середовищами привела до максимального вивільнення енергії: полярні групи залишаються у полярній рідині, а неполярний радикал обертається до неполярної фази.

Спектри ^{31}P ЯМР зразків одержували на приладі Bruker minispec-Series Time-Domain (TD) NMR Benchtop Systems. Розташування лінії поглинання або хімічних зсувів вимірювався відносно стандарту (ортофосфорної кислоти) і виражався у мільйонних частинах напруженості магнітного поля.

Концентрацію структурних перетворень визначали за методом Ребіндера, який полягає у вимірюванні поверхневого натягу розчинів ПАР різної концентрації та побудові графіка отриманої залежності в логарифмічних координатах.

Результати та обговорення

Молекули фосфатидилхоліну у водних розчинах при низьких концентраціях утворюють сферичні міцели; при підвищенні концентрації міцели групуються у довгі циліндри, а далі – у бімолекулярні шари, розділені шарами води [7]. Припускають, що фосфоліпідні в олії, у якій практично немає води, містяться у молекулярно-розчинному стані у вигляді складних хімічних сполук із стеролами чи аліфатичними спиртами або у вигляді комплексів з дво-, тривалентними металами та вуглеводнями, які утворені за допомогою внутрішньомолекулярних водневих чи координаційних зв'язків. Фосфоліпідні можуть являти собою також асоціати низького порядку типу димерів–квадруполів, сумарний дипольний момент яких близький до нуля, або у вигляді міцел різного порядку [7,8], утворених за допомогою міжмолекулярних водневих та ван-дер-ваальсових сил.

Здійснено дослідження на межі олія–вода, оскільки адсорбція саме на цій межі має важливе значення при стабілізації емульсійних систем. Для проведення досліду готували серію розчинів різної концентрації досліджуваних поверхнево-активних речовин у соняшниковій зне-

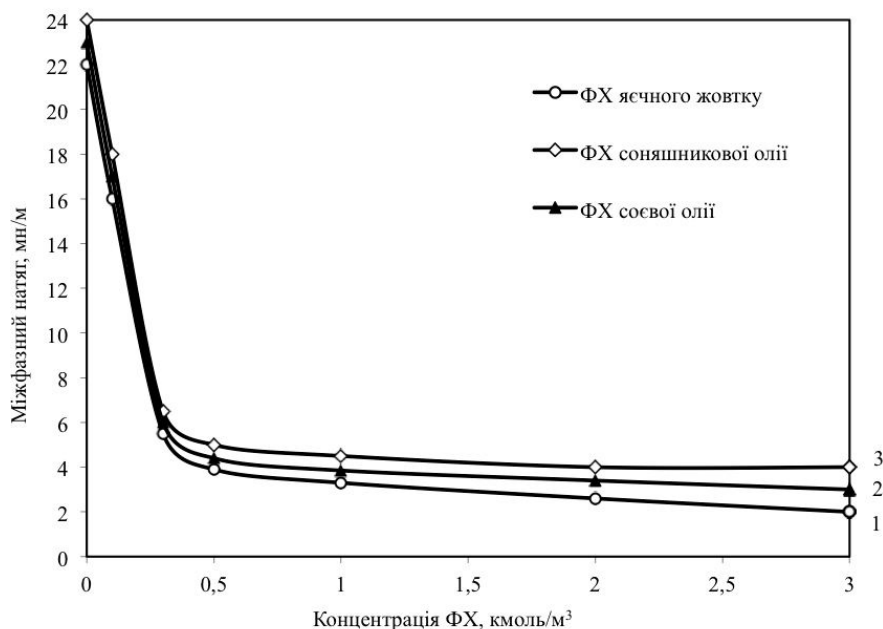


Рис. 2. Ізотерми поверхневого натягу ФХ на межі поділу фаз олія–вода

особленій олії. На рис. 2 наведені ізотерми поверхневого натягу ФХ, одержаного з соєвої (1), соняшникової (2) олій та з жовтка курячого яйця (3).

Як видно, введення ФХ в концентрації від 0,1 до 0,5 кмоль/м³ ефективно знижує поверхневий натяг для всіх досліджуваних зразків. Після досягнення концентрації 0,5 кмоль/м³, ізотерми розташовуються практично паралельно одна до одної, що свідчить про подібний порядок розташування молекул на міжфазній межі (на поверхні крапель емульсії): більша частина їх поверхні знаходиться в дисперсійній фазі.

Математична обробка одержаних ізотерм поверхневого натягу дає можливість застосувати фундаментальне рівняння Гіббса і побудувати ізотерми адсорбції [9]. Зв'язок між величиною адсорбції Γ , кмоль/м², поверхневим натягом σ , Н/м, і концентрацією розчиненої адсорбованої речовини C , кмоль/м³ виражається рівнянням:

$$\Gamma = - \left(\frac{C}{RT} \right) \cdot \frac{d\sigma}{dC} \quad (1)$$

Кожній концентрації C на кривій $\sigma=f(C)$ (рис. 2) відповідає значення похідної $d\sigma/dC$, яка входить у рівняння Гіббса для розрахунку адсорбції. Такий розрахунок виконано для декількох точок на ізотермах поверхневого натягу і побудовано ізотерму адсорбції для кожного зразка. Характер залежності $\Gamma=f(C)$ визначається

умовою $\frac{d\Gamma}{dC} > 0$, що свідчить про збільшення адсорбції до певного значення Γ_{∞} зі зростанням концентрації ПАР (ФХ).

Оскільки накопичення ПАР на межі поділу фаз можливе лише до певного значення, величину граничної адсорбції Γ_{∞} розраховано з рівняння Ленгмюра [9]:

$$\Gamma = \Gamma_{\infty} \frac{KC}{1+KC}, \quad (2)$$

де K – константа адсорбційної рівноваги, дорівнює відношенню констант швидкостей процесів адсорбції і десорбції.

За методом графічного розв'язування, рівняння Ленгмюра приведено до вигляду прямої:

$$\frac{1}{\Gamma} = \frac{1}{\Gamma_{\infty}} + \frac{1}{\Gamma_{\infty} \cdot K} \cdot \frac{1}{C} \quad (3)$$

Величини Γ_{∞} і K визначали за допомогою графіка, побудованого у координатах рівняння (3) (рис. 3).

Величини максимальної адсорбції дозволяють визначити товщину адсорбційного шару (δ) та посадкову площу (S_0) однієї молекули ПАР для кожного зразка на міжфазній межі олія–вода [9]:

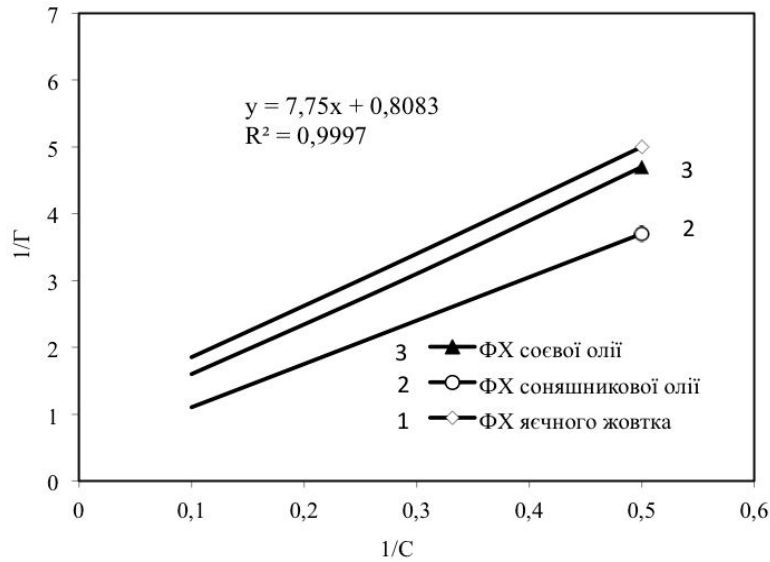


Рис. 3. Рівняння Ленгмюра у лінійній формі

Значення параметрів адсорбційних шарів ФХ на межі фаз олія–вода

Зразок (концентрація, кмоль/м ³)	Міжфазний натяг, σ , мН/м	Константа адсорбційної рівноваги K	Гранична адсорбція Γ_{∞} , мкмоль/м ²	Товщина адсорбційного шару, δ , нм	Посадкова площа однієї молекули ПАР, S_0 , нм ²
ФХ жовтка курячого яйця: 0,1	13,0	13	2,3	1,27	$7,2 \cdot 10^{-19}$
	4,5	94			
	3,5	223			
ФХ соєвої олії:	15,0	11	2,1	1,16	$7,9 \cdot 10^{-19}$
	5,5	80			
	4,5	203			
ФХ соняшникової олії:	19,0	9	1,9	1,05	$8,7 \cdot 10^{-19}$
	7,0	77			
	5,0	178			

$$\delta = \frac{\Gamma_{\infty} \cdot M}{\rho}, \quad (4)$$

$$S_0 = \frac{1}{\Gamma_{\infty} \cdot N_A}, \quad (5)$$

де M – молярна маса ПАР, кг/моль ($733,93 \cdot 10^{-3}$ кг/моль для дипальмітоїлфосфатидилхоліну); ρ – густина ПАР; кг/м³ ($1,332 \cdot 10^3$ кг/м³); Γ_{∞} – гранична адсорбція, кмоль/м²; N_A – число Авогадро.

Додаткову інформацію про колоїдно-хімічну поведінку ФХ на міжфазній межі олія–вода може дати аналіз константи адсорбційної рівноваги, яка опосередковано характеризує міжмолекулярні взаємодії у змішаних адсорб-

ційних шарах [8,9].

Розраховані параметри адсорбційних шарів для кожної з досліджуваних речовин зведено у таблицю.

З аналізу отриманих даних випливає, що ФХ з жовтка курячого яйця дещо щільніше адсорбується на межі олія–вода [10], оскільки значення його граничної адсорбції вище (2,3 проти 2,1 та 1,9 мкмоль/м²). Адсорбційні шари ФХ, одержаного із рослинної сировини, більш розрідженні, оскільки товщина їх адсорбційного шару менша, ніж у ФХ, одержаного з жовтка. Порівнюючи константи адсорбційної рівноваги, видно, що вони сильно залежать від концентрації емульгатора, і її максимальне значення відповідає його вмісту 0,5%. Розрахована посадкова площа однієї молекули ПАР на міжфазній межі олія–вода лежить в межах $(7,2-8,7) \cdot 10^{-19}$ нм²

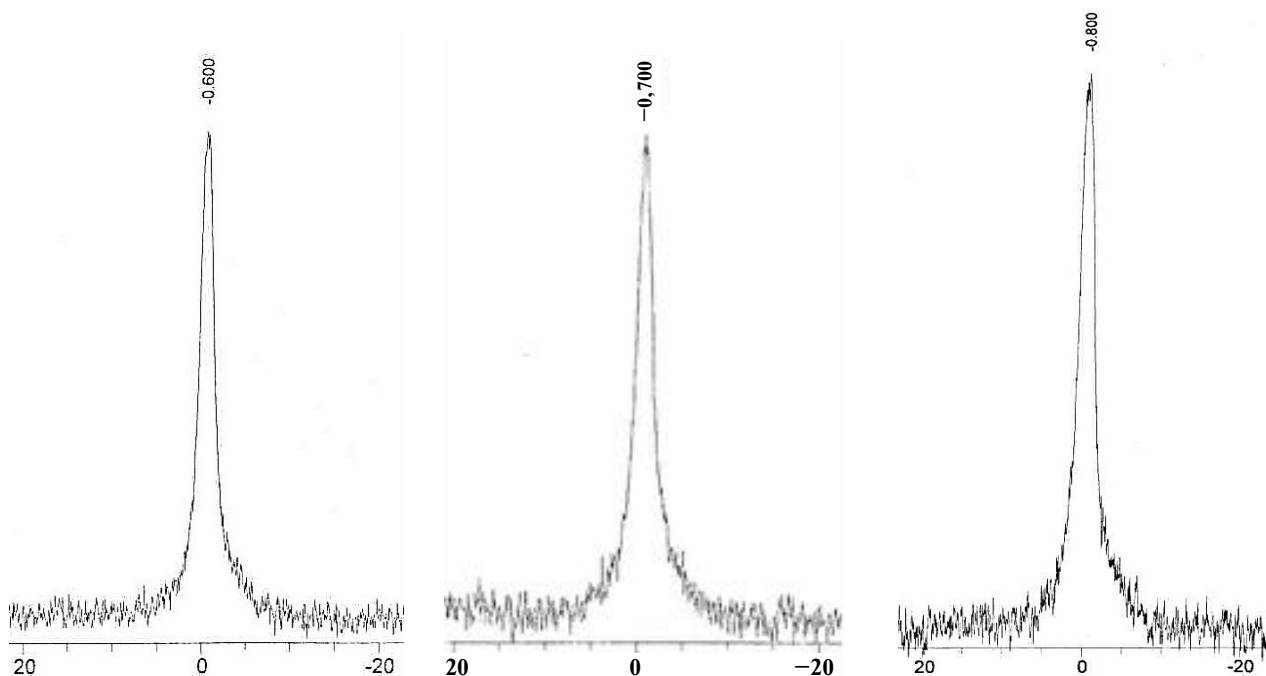


Рис. 4. Спектри ЯМР ^{31}P (поєднано при русі зліва направо: соняшникового, соєвого, жовткового) фосфатидилхоліну

і незначно змінюється для ФХ різного походження. Таким чином, спостерігається подібність поверхнево-активних характеристик ФХ різного походження, що очевидно пояснюється єдністю їх складу.

Для доведення цих припущень і встановлення особливостей складу досліджуваних фосфоліпідів застосовували спектроскопію ЯМР на ядрах ^{31}P (рис. 4).

Спектри являють собою одну чітку лінію з відхиленням від стандарту (ортофосфорна кислота) $-0,600$, $-0,700$, $-0,800$ ppm. Піки мають напівширину: № 1 – 255,58 Гц, № 2 – 226,6 Гц, № 3 – 236,62 Гц. Таким чином, між досліджуваними зразками суттєвої різниці у груповому та жирнокислотному складах немає. Це свідчить про те, що фосфогрупа цих зразків має практично однакове електричне оточення ядер фосфору [11], тобто зв'язок фосфорних груп з ліпідним ланцюгом майже однаковий практично для всіх зразків.

Для кількісної характеристики співвідношень гідрофільних і ліпофільних властивостей молекули ФХ використано поняття гідрофільно-ліпофільного балансу (так званих чисел ГЛБ) [12]. Для розрахунку ГЛБ застосовано метод Девіса [13], заснований на використанні інкрементів груп, що входять до складу молекули ПАР за рівнянням:

$$\text{ГЛБ}_{\text{ПАР}} = 7 + \Sigma(\text{ГЛБ})_r + \Sigma(\text{ГЛБ})_l, \quad (6)$$

де $\Sigma(\text{ГЛБ})_r$ – сума чисел ГЛБ всіх гідрофільних груп; $\Sigma(\text{ГЛБ})_l$ – сума чисел ГЛБ усіх ліпофільних груп.

Згідно з отриманими величинами ГЛБ, ФХ належить до групи амфотерних емульгаторів з числом ГЛБ 6,475 та є ефективним емульгатором емульсії прямого типу.

Для визначення мінімальної кількості добавки, яка дозволяє одержати стабільні емульсії, досліджено поведінку ФХ в емульсії на межі поділу фаз олія–вода. Її визначали для зразка ФХ з яєчного жовтка, одержаного ступеневою екстракцією ацетоном (рис. 5). Встановлено різке зниження поверхневого натягу при концентрації 0,3%. Це може свідчити про об'єднання молекул ФХ в конформації, з оптимальним співвідношенням поверхні до об'єму і організацією координаційної насиченості донорних атомів функціональних груп і композицій молекул води, що забезпечується особливостями молекулярної структури ФХ та їх міжмолекулярних взаємодій. Одержані дані співпадають з результатами, наданими в [14], але вони потребують подальшого уточнення та дослідження, оскільки поверхнево-активні характеристики ФХ залежать від методу його одержання та хімічної чистоти речовини.

Висновки

Показано, що фосфатидилхолін, одержаний ступеневою екстракцією з фосфатидного комплексу соняшника, сої та яєчного жовтка, є склад-

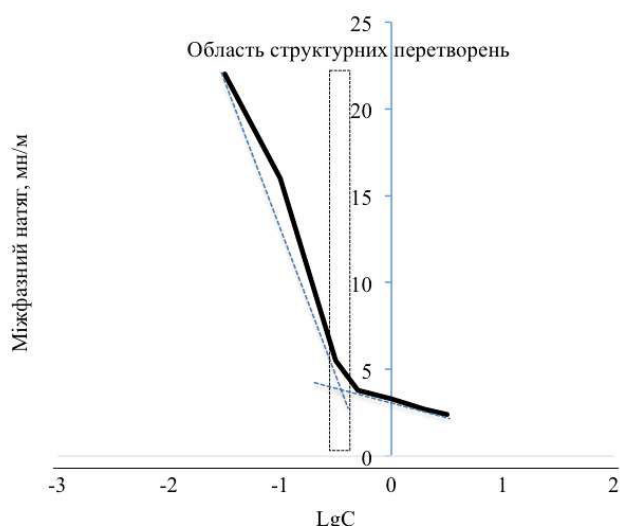


Рис. 5. Залежність величини міжфазного натягу від логарифму концентрації ФХ, одержаного з яєчного жовтка

ною природною композицією з подібною хімічною структурою. Досліджено характеристики поверхневого шару, утвореного фосфатидилхоліном в емульсії олія–вода. Показано, що ФХ володіє добрими поверхнево-активними властивостями і здатний ефективно знижувати міжфазний натяг на межі поділу фаз незалежно від джерела його походження. Одержані значення товщини адсорбційного шару ФХ на межі фаз олія–вода в межах 1,05–1,27 нм пояснюють високі емульгуючі властивості ФХ. Розраховано величину ГЛБ і показано, що ФХ належить до групи амфотерних емульгаторів з переважною розчинністю у жировій фазі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Cui L., Decker E.A. Phospholipids in foods: prooxidants or antioxidants? // *J. Sci. Food Agric.* – 2016. – Vol.96. – P.18-31.
2. Дейнека І.Ф., Авдєєва Л.Ю. Фосфоліпіди у функціональному харчуванні // *Наукові праці ОНАХТ*. – 2014. – № 46. – Т.2. – С.134-136.
3. McClements D.J., Gumus C.E. Natural emulsifiers – biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: molecular and physicochemical basis of functional performance // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2016. – Vol.234. – P.3-26.
4. Способ получения яичного лецитина // Ю.А. Мальцев, Н.Ю. Воробьев, Э.Т. Оганесян, М.М. Магонов. – Пат. 2255559 РФ. Заявл. 10.07.2005; Опубли. 2006. – Бюл. №7.
5. Бородин Е.В. Определение токоферолов методом тонкослойной хроматографии с применением программной обработки сканированных изображений хроматограмм //

Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. – Т.6. – № 3. – С.411-414.

6. Выбор оптимальных параметров разделения фосфолипидов в тонком слое сорбента / Сафонова Е.Ф., Назарова А.А., Селеменев В.Ф., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. // *Химико-фармацевт. журн.* – 2002. – Т.36. – № 4. – С.41-43.

7. Pichot R., Watson R.L., Norton I.T. Phospholipids at the interface: current trends and challenges // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol.14. – P.11767-11794.

8. The influence of phospholipids and food proteins on the size and stability of model sub-micron emulsions / J.V.L. Henry, P.J. Fryer, W.J. Frith, I.T. Norton // *Food Hydrocolloids*. – 2010. – Vol.24. – P.66-71.

9. Колоїдна хімія / М.О. Мчедлов-Петросян, В.І. Лебідь, О.М. Глазкова, О.В. Лебідь; за ред. М.О. Мчедлова-Петросяна. – Харків: ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2012. – 500 с.

10. Арцинова Т.Ю., Манджиголодзе Т.Ю. Изучение состава и анализ яичного лецитина химическими и физико-химическими методами // *Современные проблемы науки и образования*. – 2013. – № 2. – Электронный журнал. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/108-9130>.

11. Quin L.D., Williams A.J. Practical interpretation of P-31 NMR spectra and computer-assisted structure verification. – Toronto: Advanced Chemistry Development, 2004. – 130 p.

12. Gadhave A. Determination of hydrophilic-lipophilic balance value // *Int. J. Sci. Res.* – 2014. – Vol.3. – No. 4. – P.573-575.

13. Ланге К.Р. Поверхностно-активные вещества: синтез, свойства, анализ, применение / Под науч. ред. Л.П. Зайченко. – СПб.: Профессия, 2004. – 240 с.

14. Пантюхин А.В., Степанова Э.Ф., Петров А.Ю. Современные аспекты использования природных поверхностно-активных веществ в фармацевтической технологии // *Научные ведомости БелГУ, Сер. Медицина. Фармация*. – 2012. – № 4 (123). – Вып. 17. – С.228-233.

Надійшла до редакції 30.05.2019

INVESTIGATION OF THE SURFACE-ACTIVE PROPERTIES OF PHOSPHATIDYLHOLINE

I.G. Radziewska*, O.P. Melnyk, V.M. Pasichnyy, A.I. Marynin
National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine
* e-mail: logos2007@ukr.net

When developing heterogeneous food systems that contain a liquid–liquid interface, surface-active substances (surfactants) are used to reduce the surface tension and promote the stability of the emulsions. Phosphatidylcholine is a common food additive, which is widely used in emulsion products. At the same time, the physicochemical properties of phosphatidylcholine have not been fully investigated, and its surface-active properties are not known to date. This work reports the properties of the surface layer of phosphatidylcholine obtained by step extraction from the phosphatidic complex of chicken eggs, sunflower oil and soybean oil. Based on the calculated values of the limiting adsorption, the thickness of the adsorption layer and the surface area occupied by one molecule, the identity of the surface-active properties of the studied surfactants

was shown when a water-in-oil type emulsion is formed, irrespective of the source of raw materials (animal and vegetable origins). NMR ³¹P spectroscopy method revealed that there was no significant difference in the group and fatty acid composition of the studied samples ($\pm 0.5\%$). The value of the hydrophilic-lipophilic balance of the phosphatidylcholine was stated to be 6.475; thus, it belongs to the amphoteric emulsifiers of water-in-oil type emulsions. The concentration of structural transformations was determined to be 0.3%; therefore, one can prepare stable oil-water emulsions without the use of additional co-emulsifiers. The obtained data may be used for the precise selection of the composition of multi-component stabilization compositions and effective control over the stability of the structured systems.

Keywords: phosphatidylcholine; surface tension; NMR ³¹P spectra; hydrophilic-lipophilic balance; micelle formation.

REFERENCES

1. Cui L., Decker E.A. Phospholipids in foods: prooxidants or antioxidants? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, vol. 96, pp. 18-31.
2. Deyneka I.F., Avdyeyeva L.Yu. Fosfolipidy u funkcionalnomu kharchuvanni [Phospholipids in functional nutrition]. *Naukovi Pratsi ONAKhT*, 2014, vol. 2, no. 46, pp. 134-136. (in Ukrainian).
3. McClements D.J. Gumus C.E. Natural emulsifiers – biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2016, vol. 234, pp. 3-26.
4. Mal'tsev Yu.A., Vorob'yev N.Yu., Oganesyan E.T., Magonov M.M., *Sposob polucheniya yaichnogo letsitina* [Method for producing egg lecithin]. Patent RU, no. 2255559, 2005. (in Russian).
5. Borodina E.V. Opredelenie tokoferolov metodom tonkosloinoi khromatografii s primeneniem programmnoi obrabotki skanirovannykh izobrazhenii khromatogram [Determination of tocopherols by thin layer chromatography using software processing of scanned chromatogram images]. *Sorbtsionnye i Khromatograficheskiye Protsessy*, 2006, vol. 6, no. 3, pp. 411-414. (in Russian).
6. Safonova E.F., Nazarova A.A., Selemenev V.F., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. Vybor optimalnykh parametrov razdeleniya fosfolipidov v tonkom sloye sorbenta [The choice of optimal parameters for the separation of phospholipids in a thin layer of sorbent]. *Khimiko-Farmatsevticheskiy Zhurnal*, 2002, vol. 36, no. 4, pp. 41-43. (in Russian).
7. Pichot R., Watson R.L., Norton I.T. Phospholipids at the interface: current trends and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, vol.14, pp. 11767-11794.
8. Henry J.V.L., Fryer P.J., Frith W.J., Norton I.T. The influence of phospholipids and food proteins on the size and stability of model sub-micron emulsions. *Food Hydrocolloids*, 2010, vol. 24, pp. 66-71.
9. Mchedlov-Petrosyan M.O., Lebid' V.I., Glazkova O.M., Lebid' O.V., *Koloyidna khimiya* [Colloid chemistry]. V. Karazin National University Publishers, Kharkiv, 2012. 500 p. (in Ukrainian).
10. Archinova T.Yu., Mandzhigoladze T.Yu. Izucheniye sostava i analiz yaichnogo letsitina khimicheskimi i fiziko-khimicheskimi metodami [The study of the composition and analysis of egg lecithin chemical and physicochemical methods]. *Sovremennyye Problemy Nauki i Obrazovaniya*, 2013, no. 2. Available from: <http://www.science-education.ru/108-9130>. (in Russian).
11. Quin L.D., Williams A.J., *Practical interpretation of P-31 NMR spectra and computer-assisted structure verification*. Advanced Chemistry Development, Toronto, 2004. 130 p.
12. Gadhave A. Determination of hydrophilic-lipophilic balance value. *International Journal of Science and Research*, 2014, vol. 3, no. 4, pp. 573-575.
13. Lange K.R., *Poverkhnostno-aktivnye veshchestva: sintez, svoystva, analiz, primenenie* [Surfactants: synthesis, properties, analysis, and application]. Professiya Publishers, St. Petersburg, 2004. 240 p. (in Russian).
14. Pantyukhin A.V., Stepanova E.F., Petrov A.Yu. Sovremennyye aspekty ispolzovaniya prirodnykh poverkhnostno aktivnykh veshchestv v farmatsevticheskoi tekhnologii [Up-to-date aspects of the use of natural surface-active substances in pharmaceutical technology]. *Nauchnyye Vedomosti BelGU, Seriya Meditsina. Farmatsiya*, 2012, vol. 17, no. 4 (123), pp. 228-233. (in Russian).