

УДК 543.544.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2023.4.8

ПРИМЕНЕНИЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В АНАЛИЗЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

© И. И. Андреева*, Ю. Ю. Гайнуллина

Уфимский университет науки и технологий
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

*Email: i.irinaandreeva@mail.ru

Молочные продукты богаты содержанием различных полезных веществ: микро- и макроэлементами, витаминами, белками и др. Тонкослойная хроматография (ТСХ) – метод, применяющийся в центрах госсанэпиднадзора, стандартизации и метрологии. ТСХ используется в анализе молочной продукции на содержание минеральных веществ для оценки и контроля качества. В данной работе методом ТСХ приведены исследования анализа разных образцов молока на содержание ионов железа (III), меди (II), кобальта (II), никеля (II). Представлены показатели фактора удерживания – R_f. Продемонстрирована целесообразность использования метода ТСХ в анализе количественного и качественного состава пищевых продуктов. Результаты, полученные в ходе исследования, были сверены со значениями предельно допустимой концентрации (ПДК) согласно государственному стандарту. Исследуемые образцы соответствуют заданным стандартам качества и являются безопасными для здоровья человека.

Ключевые слова: молочные продукты, микроэлементы, тонкослойная хроматография, фактор удерживания.

Введение

Молоко является ценным продуктом, необходимым человеку. Молочные продукты являются основой питания для многих людей. Человек употребляет молоко в пищу с первых дней жизни, чтобы удовлетворить физиологические потребности. Высокое содержание витаминов и микроэлементов в молочных продуктах способствует улучшению работы иммунной системы, благотворному влиянию на стенки сосудов и понижению кровяного давления. Основными минеральными веществами, входящими в состав молока, являются кальций, фосфор, калий, магний, а также соли – фосфаты, цитраты и хлориды. Кальций – наиболее важный макроэлемент. Он содержится в легкоусвояемой форме и хорошо сбалансирован с фосфором, содержание которого в коровьем молоке составляет приблизительно 100–140 мг/100гр. Помимо этого, молоко богато аминокислотами: серин – защищает клетки нервной системы от негативных воздействий, гистидин участвует в формировании белка, влияющего на метаболические реакции организма, аргинин – обеспечивает работу сердца и сосудов и т.д.

Кроме них в молоке содержатся ионы металлов, которые обеспечивают ряд процессов в человеческом организме. Так, железо участвует в образовании гемоглобина, насыщая организм кислородом, поддерживает терморегуляцию организма, воздействует на процессы желудочно-кишечного тракта. Медь содержится во многих ферментах, способствует образованию эритроцитов, входит в состав миелиновой оболочки. Никель принимает участие в окислительно-восстановительных процессах, структурной организации и функционировании белков, в т.ч. и ДНК, РНК. Кобальт входит в состав витамина В₁₂, участвует в процессе абсорбции железа в крови, способствует образованию гормона щитовидной железы тироксина. Однако избыток ионов металлов может причинить вред организму. Согласно ГОСТу 31450-2013 все молочные продукты должны иметь определенный состав микроэлементов.

С целью увеличения срока хранения и безопасности продукта, молоко подвергают обработке – стерилизации и пастеризации. Всем известно, что в парном молоке присутствуют вредные для здоровья человека микроорганизмы, которые погибают при нагревании до 70–90 °С. Стерилизацию молока проводят при температуре выше 100 °С, а ультрастерилизацию – при 140 °С. Однако такие процедуры имеют и недостатки. Главный из них – уменьшение биологической ценности продукта, в т.ч. и ионов металлов. В связи с этим исследование содержания микроэлементов в молоке является важной задачей. В данной работе такую задачу решали методом тонкослойной хроматографии.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) – физико-химический метод качественного и количественного анализа, основанный на перемещении элюента в пористой среде адсорбента. Перемещение подвижной фазы под действием капиллярных сил в порах между гранулами сорбента получило название восходящей ТСХ.

Метод ТСХ широко распространен в анализе фармацевтических, медико-биологических объектов, стандартизации, экологического контроля, судебно-медицинской экспертизе и других видов анализа [1–2]. Достоинствами ТСХ является простота выполнения, низкая стоимость затрат и портативность аппаратуры [3]. ТСХ обладает высокой избирательностью и чувствительностью [4], является достаточно точным методом, с помощью которого можно быстро и эффективно идентифицировать, и разделить сложные смеси различных веществ [5].

ТСХ можно совмещать с другими методами: масс-спектрометрией М-С, высокоэффективной тонкослойной хроматографией ВЭТСХ, высокоэффективной жидкостной хроматографией ВЭЖХ и др.

Метод ТСХ применяется в анализе пищевых продуктов с целью исследования на содержание различных веществ и безопасность потребления [6].

Качественный анализ в ТСХ проводится визуально по наличию или отсутствию цветных пятен на пластине. При этом каждое содержащееся в пробе соединение имеет свой определенный цвет. Для проведения количественного анализа применяют спектрофотометры ультрафиолетовой и видимой области [7], для веществ, не содержащих в молекулах хромофоров, производят опрыскивание растворами различных реагентов [8].

В качестве неподвижной фазы в ТСХ наиболее часто используются силикагель, оксид алюминия, целлюлоза, полиамид. Можно воспользоваться готовыми хроматографическими пластинами, многие из которых имеют флуоресцентный индикатор [9]. Подвижную фазу выбирают в зависимости от природы сорбента и свойств исследуемых образцов соединений.

Фактор удерживания R_f является основной качественной характеристикой вещества в ТСХ. Определить его значение можно по отношению расстояния пройденного анализируемым веществом к расстоянию пройденному подвижной фазой от стартовой линии до линии фронта [10]. Величина R_f , найденная экспериментально, должна быть сравнена с величиной R_f «свидетеля» – эталонного вещества, содержащегося в анализируемой смеси при тех же условиях [11].

Значение фактора удерживания зависит от растворителя, сорбента, материала, из которого состоит сама пластина для хроматографирования, температуры растворителя и пластины [12].

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали ультрапастеризованное молоко марки «Северная долина» [13] (образец А) и детское молоко марки «Ми-ми-мишки» [14] (образец Б). Для анализа применяли готовые хроматографические пластины марки “Sorbfil” (ООО «Имид», г. Краснодар).

Эксперимент проводили по методике [15]. Исследуемые пробы 50 мл молока упарили до объема 5 мл и по 1 мл прилили к растворам хлорида железа (III), хлорида меди (II), сульфата кобальта (II), сульфата никеля (II) соответственно. На хроматографические пластины стеклянным капилляром наносили 4 пробы исследуемых растворов в 15 мм от края (стартовая линия) в 10–15 мм друг от друга таким образом, что каждая последующая проба превосходила предыдущую в 2 дозировки. После нанесения каждой пробы пластину сушили 5–7 мин. на воздухе при комнатной температуре.

Системы растворителей готовили по методике [16]. Для обнаружения ионов железа (III) и меди (II) использовали раствор 6 н. этанола и 3 н. соляной кислоты в соотношении 4:1. Их определения на пластине 1. Для обнаружения ионов кобальта (II) и никеля (II) использовали пластины 2, элюентом которых служил раствор ацетона и 3 н. соляной кислоты в соотношении 9:1. Системы растворителей находились в камере хроматографирования таким образом, чтобы высота слоя растворителя не превышала 10 мм и не касалась нанесенных на стартовую линию проб. Необходимо отметить, что при отсутствии в молоке ионов железа, меди, кобальта и никеля, даже при добавлении в пробы контрольных растворов анализируемых ионов – пятен на пластине выявлено не будет.

Пластины 1 под углом 10–15° помещали в камеры для хроматографирования на 20 мин., пластины 2 – на 25 мин. Элюирование производилось по восходящему методу. По истечению времени пластины сушили при комнатной температуре. С использованием пульверизатора наносили 10%-й раствор гексациано-II-феррата калия на пластины 1, и 25%-й раствор аммиака на пластины 2 соответственно.

Результаты и их обсуждения

На хроматограмме образца А присутствуют пятна синего и бурого цвета на пластине 1 и пятно розового цвета на пластине 2, свидетельствующее о наличии в исследуемой пробе ионов железа (III), меди (II) и кобальта (II) соответственно: *рис. 1*. Пятно голубого цвета на пластине 2 не проявилось на хроматограмме данной пробы – содержание ионов никеля (II) не подтвердилось в ходе исследования. На хроматограмме образца Б проявились пятна синего и бурого цвета на пластине 1 и голубого цвета на пластине 2, свидетельствующее о наличии ионов железа (III), меди (II) и никеля (II) соответственно: *рис. 2*. На пластине 2, элюентом в которой служил раствор гексациано-II-феррат калия не проявилось пятно розового цвета, что свидетельствует о том, что в пробе образца Б не подтвердилось содержание ионов кобальта (II).

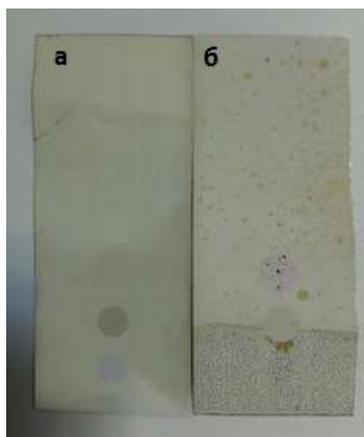


Рис. 1. Хроматографические пластинки исследуемого молочного продукта образца А.
На пластине 1 (а) синее пятно соответствует ионам железа (III), бурое – ионам меди (II);
на пластине 2 (б) розовое пятно соответствует ионам кобальта (II).

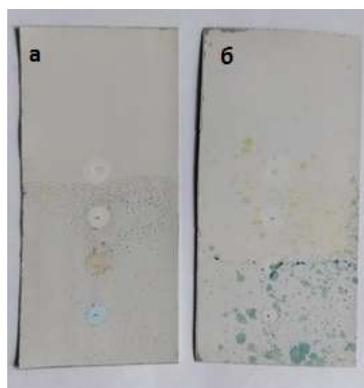


Рис. 2. Хроматографические пластинки исследуемого молочного продукта образца Б.
На пластине 1 (а) синее пятно соответствует ионам железа (III), бурое – ионам меди (II);
на пластине 2 (б) голубое пятно соответствует содержанию ионов никеля (II).

На хроматограммах извлечений обнаружилось 4 зоны, которые удалось идентифицировать по 3 цветовых пятна в каждом из двух анализируемых образцов.

Приведены величины фактора удерживания R_f микроэлементов, содержащихся в исследуемых образцах молока: *табл.*

Таблица

Результаты фактора удерживания R_f микроэлементов
в исследуемых образцах молока

Исследуемый объект	Элюент			
	Этанол – соляная кислота, 4:1		Ацетон и соляная кислота, 9:1	
	Fe^{3+}	Cu^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}
Образец А	1.8	1.1	1.8	-
Образец Б	2.2	1.7	-	1.5

*Образец А – ультрапастеризованное молоко марки «Северная долина»,
образец Б – детское молоко марки «Ми-ми-мишки».

*«-» зона на треке отсутствует.

Заключение

Полученные значения факторов удерживания свидетельствуют о том, что разделение прошло успешно. Движение растворителя и определяемых ионов различно. Содержание минеральных веществ исследуемых проб молочных продуктов подтверждено экспериментально и соответствует заявленным показателям качества согласно межгосударственному стандарту [17–18].

В двух исследуемых образцах проб содержание ионов железа (III) превышает содержания ионов меди (II), кобальта (II), никеля (II). Содержание ионов железа (III) выше в образце Б по сравнению с образцом А, поскольку

детское молоко по содержанию должно быть богаче ионами железа (III), т.к., по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), дети более подвержены железодефицитной анемии [19].

Методом тонкослойной хроматографии исследован состав некоторых образцов продуктов питания. Отработана методика изучения состава молочных продуктов: применение ТСХ можно использовать как экспресс-метод определения ионов металлов в молоке. Проведенное исследование подтвердило, что отборные образцы молочных продуктов по содержанию микроэлементов соответствуют государственному стандарту. Содержание ионов железа (III), меди (II), кобальта (II), никеля (II) в исследуемых пробах молочной продукции не превышают значений ПДК. Установлено, что изучаемые образцы молочной продукции являются безопасными и их можно употреблять.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калекин Р. А. Определение нейрорептиков – производных бензамида методом тонкослойной хроматографии // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. №2. С. 19–20. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-neyroreptikov-proizvodnyh-benzamida-metodom-tonkosloynoy-hromatografii>
2. Тринеева О. В., Рудая М. А., Сливкин А. И., Дубовицких М. А. Исследование профиля свободных аминокислот плодов облепихи крупинчатой различных сортов методом тонкослойной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2020. Т. 20. №2. С. 277–283. DOI: 10.17308/sorpchrom.2020.20/2783. URL: https://www.researchgate.net/publication/342739941_Issledovanie_profila_svoobodnyh_aminokislot_plodov_oblepихи_krusinchatoy_razlichnyh_sortov_metodom_tonkosloynoj_hromatografii
3. Орлова А. М., Калекин Р. А., Волкова А. А. и др. Обнаружение клобазам в моче методом тонкослойной хроматографии // Вестник Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2021. №3. С. 106–113. URL: <http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2021/03/2021-03-13.pdf>
4. Ветохин С. С., Ненартович И. В. Электрофоретические и хроматографические методы определения фальсификации молочных продуктов // Труды Белорусского гос. технол. ун-та. Серия 4. Химия и технология органических веществ. 2008. Т. 1. №4. С. 255–258. URL: <https://elib.belstu.by/handle/123456789/39724>
5. Внуков В. И., Кайргалиев Д. В., Васильев Д. В. и др. Тонкослойная хроматография при исследовании наркотических средств // Современные проблемы науки и образования. 2015. №1–2. С. 302. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23662530>
6. Сиза О. И., Тимкова И. О., Савченко О. М., Челябинцева В. М. Эффективность контролю якості харчових продуктів методом тонкошарової хроматографії // Технічні науки та технології. 2018. №1. С. 150–158. DOI: 10.25140/2411-5363-2018-1(1)-150-158. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=35093563>
7. Юрова Е. А. Хроматографические методы анализа // Молочная промышленность. 2010. №2. С. 16–18. URL: <https://moloprom.ru/2017/07/hromatograficheskie-metody-analiza/>
8. Миназова Г. И. Тонкослойная хроматография в анализе природного сырья // Башкирский хим. журнал. 2010. Т. 17. №5. С. 105–107. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/tonkosloynaya-hromatografiya-v-analize-prirodnogo-syrua>
9. Горшко О. А., Чеча О. А., Пахомов В. П. и др. Сорбенты для тонкослойной хроматографии в фармацевтическом анализе // Химико-фармац. журнал. 2010. Т. 44. №9. С. 53–56. URL: <http://chem.folium.ru/index.php/chem/article/viewFile/233/233>
10. Купаева Н. В., Василевская Е. Р., Федулова Л. В., Котенкова Е. А. Применение метода тонкослойной хроматографии для анализа антиоксидантной активности // Пищевые системы. 2021. Т. 4. №1. С. 26–30. DOI: 10.21323/2618-9771-2021-4-1-26-30.
11. Сумина Е. Г., Штыков С. Н., Угланова В. З., Кулакова Н. В. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение: учеб. пособие. Изд-е 3-е, доп. Саратов: Саратовский гос. ун-т им. Н. Г. Чернышевского», 2012. 128 с. URL: http://elibrary.sgu.ru/uch_lit/590.pdf
12. Gupta R. How to Calculate RF // Sciencing. 2020. №2. С. 37. URL: <https://sciencing.com/how-7152385-calculate-rf.html> (дата обращения 26.02.2023).
13. НП 5305576. Северная долина. Молоко питьевое ультрапастеризованное с массовой долей жира 3.2%. 25.06.2021. URL: <https://rskrf.ru/upload/iblock/242/9eknyc769sjqh4pflc3ed19s5w84opjf.pdf>
14. НГР 608389 Ми-ми-мишки Молоко питьевое детское с массовой долей жира 3.2%. 14.03.2017. URL: https://www1.fips.ru/fips_serv1/fips_servlet?DB=RUTM&DocNumber=608389
15. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. М.: Мир, 1980. 219 с.
16. Гроссе Э., Вайсмантель Х. Химия для любознательных. Л.: Химия, 1987. 392 с.
17. ГОСТ 31450-2013 Молоко питьевое. Технические условия. М.: Стандартинформ. 1 июля 2014 г. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200103303> (дата обращения 27.02.2023).
18. ГОСТ 28283-2015 Молоко коровье. Метод органолептической оценки вкуса и запаха. М.: Стандартинформ. 1 июля 2016 г. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200124738> (дата обращения 27.02.2023).
19. Safiri S., Kolahi A. A., Noori M. et al. Burden of anemia and its underlying causes in 204 countries and territories, 1990–2019: results from the Global Burden of Disease Study 2019 // J Hematol Oncol. 2021. No. 14. P. 185. URL: <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01202-2>

Поступила в редакцию 06.12.2023 г.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2023.4.8

**APPLICATION OF THIN LAYER CHROMATOGRAPHY
IN THE ANALYSIS OF DAIRY PRODUCTS**

© **I. I. Andreeva***, **Yu. Yu. Gainullina**

*Ufa University of Science and Technology
32 Zaki Validi St., 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

**Email: i.irinaandreeva@mail.ru*

Dairy products are rich in various nutrients: micro- and macroelements, vitamins, proteins, fats, etc. Thin-layer (planar) chromatography (TLC). It is a method of analysis of various substances and mixtures of compounds, which is used in the centers of State Sanitary and Epidemiological Surveillance for standardization and metrology. Thin-layer chromatography is used in the analysis of dairy products for mineral substances in order to assess and control quality. In this paper, the analysis of different milk samples for the content of microelements, such as iron (III), copper (II), cobalt (II), nickel (II) ions, is carried out by TLC. The indicators of the retention factor – R_f are presented. The expediency of using the thin-layer chromatography method in the analysis of the quantitative and qualitative composition of food products is demonstrated. The content of microelements obtained during the study was compared with the values of the maximum permissible concentration (MPC) according to the state standard. The studied samples comply with the specified quality standards; therefore, they are safe for human health.

Keywords: dairy products, microelements, thin-layer chromatography, retention factor.

Received 06.12.2023 г.