

УДК 637.068

<https://doi.org/10.48184/2304-568X-2022-3-5-13>

СҮТ ЖӘНЕ СҮТ ӨНІМДЕРІНІҢ МАЙ ҚЫШҚЫЛЫНЫҢ ПРОФИЛІН ГАЗДЫ ХРОМАТОГРАФИЯ ӘДІСІМЕН АНЫҚТАУ ҮШІН СЫНАМА ТЕХНОЛОГИЯСЫН ДАЙЫНДАУ

¹М.С. СЕРИКОВ*, ²М.Т. НУРГАЛИЕВА, ¹А.Д. СЕРИКБАЕВА,
³А.С. КОНОНИХИН, ¹М.К. ИЗТИЛЕУОВ

¹КЕАҚ «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті», Қазақстан, 050010,
Алматы қ., Абай даңғылы, 5

²ЖШС «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринарлық институты», Қазақстан, 050016,
Алматы қ., Райымбека даңғылы 223

³«Сколков ғылым және технология институты, Ресей», 121205, Мәскеу қ.,
Үлкен бульвар, 30 үй, корп. 1)

Автор-корреспонденттің электрондық поштасы: maksat.serikov@kaznaru.edu.kz*

Қазіргі заманғы аналитикалық зерттеулерде газ хроматографиясын қолдана отырып, сүт өнімдерінің май қышқылдарын анықтаудың белгілі модификациясын жетілдіруге және жаңа әдістерін жасауға көп көңіл бөлінеді. Аналитикалық зерттеулер тәжірибесіндегі ең маңызды кезеңдер сынамалар технологиясын дайындау кезеңдері болып табылады. Зерттеу мақсаты-газды хроматография әдісімен кейінгі зерттеулер үшін сүт өнімдерінің үлгілерін сынамалық технологиясын дайындауды дамыту. Зерттеу объектілері экстрагенттер және анықталатын заттардың толық шығарылуына ықпал ететін экстракцияның оңтайлы шарттары болып табылады: экстрагенттің концентрациясы мен көлемі, экстракция уақыты және температуралық режим. Бұл жұмыс сынама технологиясы майдың салмақтық үлесі 3% - тен асатын сүттің майқышқылдық құрамын анықтау үшін сынамаларды дайындау әдісін қамтиды, оны 10000 айналым кезінде 10 минут бойы центрифугалайды, центрифугаланған зертханалық сынамадан пробиркаға жоғарғы бөлігінен 20 мл май алады, содан кейін 2 см³ органикалық еріткіште (гексан) ерітеді, содан кейін 1-2 минут бойы қолмен араластырады. Алынған ерітіндіге 2 молярлық концентрациядағы натрий метилаты ерітіндісінің 100 мл тамшуымен қосады және пробирканы тығызмен жабады, содан кейін 2 минут бойы қолмен қарқынды араластырады, 5 минут ұстайды және метил эфирлері бар жоғарғы қабатты газ сүзгісі арқылы сүзеді, нәтижесінде алынған ерітінді газды хроматография арқылы зерттеуге дайын болады. Ұсынылған жаңа әзірлеу тәсілі сынама технологиясын дайындау уақытын қысқартады (~19 мин), жұмсалатын еріткіш мөлшерін 10 еседен астам азайтады, сынамалармен жұмыс істеу кезіндегі іс-қимылдар санын азайтады, сондай-ақ жабдықтың ең аз санын қажет етеді.

Негізгі сөздер: газ хроматографиясы, масс-спектрометрия, сынама дайындау, сүт өнімдері, май қышқылдары, метилдеу, май қышқылдарының тарнизомерлері.

МОДИФИКАЦИЯ ПОДХОДА К ТЕХНОЛОГИИ ПОДГОТОВКИ ПРОБ МОЛОКА И МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО ПРОФИЛЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

¹М.С. СЕРИКОВ*, ²М.Т. НУРГАЛИЕВА, ¹А.Д. СЕРИКБАЕВА,
³А.С. КОНОНИХИН, ¹М.К. ИЗТИЛЕУОВ

¹НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», 050010,
Казахстан, г. Алматы, проспект Абая 8.

²Товарищество с ограниченной ответственностью «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Республика Казахстан, 050016, г. Алматы, пр. Райымбека 223.

³«Сколковский институт науки и технологий», Россия, 121205, г. Москва,
Большой бульвар, д. 30, корп. 1)

Электронная почта автора корреспондента: maksat.serikov@kaznaru.edu.kz*

В современных аналитических исследованиях совершенствованию/модификации известных и разработке новых методов определения жирных кислот в масложировой продукции с использованием

газовой хроматографии уделяется большое внимание. Наиболее важными этапами в практике аналитических исследований являются стадии пробоподготовки образцов. Цель исследования - разработка технологии подготовки проб образцов молока и молочной продукции для последующих исследований методом газовой хроматографии. Объектами исследования являются экстрагенты и оптимальные условия экстракции, способствующие полному высвобождению определяемых веществ: концентрация и объем экстрагента, время экстракции и температурный режим. Данная работа включает технологию подготовки проб для определения жирнокислотного состава молока массовой долей жира более 3% которое центрифугируют в течение 10 минут при 10000 оборотах; из центрифугированной лабораторной пробы в пробирку из верхней части отбирают 20 мкл масла, затем растворяют в 2 см³ органического растворителя (гексана), после перемешивают вручную в течение 1-2 минут, к полученному раствору добавляют пипеткой 100 мкл раствора метилата натрия 2 молярной концентрации и закрывают пробирку пробкой, далее интенсивно перемешивают вручную в течение 2 минут, настаивают 5 минут и фильтруют через бумажный фильтр верхний слой, содержащий метиловые эфиры. Полученный раствор будет готов к исследованию методом газовой хроматографии. Предлагаемый новый подход разработки технологии сокращает время пробоподготовки (~19 мин), уменьшает количество расходуемого растворителя более чем в 10 раз, минимизирует количество действий при работе с пробами, также требует минимального количества оборудования.

Ключевые слова: газовая хроматография, масс-спектрометрия, пробоподготовка, молочная продукция, жирные кислоты, метилирование, тарнизомеры жирных кислот.

MODIFICATION OF THE APPROACH TO THE TECHNOLOGY OF PREPARATION OF SAMPLES OF MILK AND DAIRY PRODUCTS FOR THE DETERMINATION OF THE FATTY ACID PROFILE USING THE GAS CHROMATOGRAPHY METHOD

¹M.S. SERIKOV*, ²M.T. NURGALIEVA, ¹A.D. SERIKBAYEVA,
³A.S. KONONIKHIN, ¹M.K. IZTILEUOV

¹NAO «Kazakh National Agrarian Research University», 050010, Kazakhstan,
Almaty, Abai Avenue 8.

²LLP «Kazakh Scientific Research Veterinary Institute», Republic of Kazakhstan, 050016,
Almaty, 223 Rayymbek Ave.

³«Skolkovo Institute of Science and Technology», Bolshoy Boulevard, 30, bldg. 1,
Moscow, Russia, 121205)

Corresponding author email: maksat.serikov@kaznaru.edu.kz*

In modern analytical studies, much attention is paid to the improvement/modification of known and the development of new methods for the determination of fatty acids in fat-and-oil products using gas chromatography. The most important stages in the practice of analytical research are the stages of sample preparation of samples. The purpose of the study is to develop a technology for preparing samples of milk and dairy products for subsequent studies by gas chromatography. The objects of the study are extractants and optimal extraction conditions that contribute to the full release of the substances being determined: the concentration and volume of the extractant, the extraction time and temperature regime. This work includes the technology of sample preparation for determining the fatty acid composition of milk with a fat mass fraction of more than 3%, which is centrifuged for 10 minutes at 10000 rpm, 20 µl of oil is taken from the centrifuged laboratory sample into a test tube from the upper part, then dissolved in 2 cm³ of organic solvent (hexane), then mixed manually for 1-2 minutes, 100 ml of sodium methylate solution of 2 molar concentration is added to the resulting solution with a pipette and the tube is closed with a stopper, then intensively mixed manually for 2 minutes, insist for 5 minutes and filter through a paper filter the top layer containing methyl esters, the resulting solution will be ready for examination by gas chromatography. The proposed new approach to technology development reduces the sample preparation time (~19 min), reduces the amount of solvent consumed by more than 10 times, minimizes the number of actions when working with samples, and requires a minimum amount of equipment.

Keywords: gas chromatography, mass spectrometry, sample preparation, dairy products, fatty acids, methylation, trans isomer.

Kіpіcne

Капиллярлық газ хроматографиясын қолдану липидтердің құрылымдық-химия-

лық зерттеулерін едәуір кеңейтті, бұл гомологиялық немесе функционалды түрде ерекшеленетін май қышқылдарын ғана емес,

сонымен қатар олардың геометриялық изомерлері мен позиция изомерлерін тез және сенімді бөлуге мүмкіндік берді. Жақында биологиялық нысандардағы жеке май қышқылдарының сандық газохроматографиялық анықтамасы аналитикалық әдіс ең танымал әдістерінің бірі болып табылды: ол тамақ өнімдерінің тағамдық құндылығын бағалауда, биологиялық үлгілердің табиғатын таксономиялық және сот-медициналық анықтауда, әртүрлі этиологиялардың ауруларын диагностикалауда ақпараттық биомедициналық критерийлердің көзі ретінде кеңінен қолданылады [1,2].

Биологиялық үлгідегі жеке май қышқылдарының спектрін газохроматографиялық анықтау сынама компоненттерін міндетті түрде алдын – ала химиялық деривациялауды қажет етеді: глицеридтердің, фосфолипидтердің, холестерин эфирлерінің, балауыздың май қышқылының фрагменттерін май қышқылдарының ұшпа және ыстыққа төзімді алкилді эфирлеріне айналдыру. Липидтерді май қышқылдарының метил эфирлеріне аудару әдістері көптеген шолуларда егжей-тегжейлі сипатталған [3].

Азық-түлік үлгісінің тағамдық құндылығы оның май қышқылдарының профиліне байланысты; сондықтан газ хроматографиясына негізделген үлгінің май қышқылдарының профилін бағалау әдістері ұсынылады. Алайда, жоғары полярлыққа, төмен құбылмалылыққа және липидтердің типтік үлгілерінің сутегі байланыстарының пайда болуына жоғары бейімділікке байланысты GC-ге тікелей өту қиын. Сондықтан, осы әдісті қолданар алдында, әдетте, иеліктен шығару міндетті талап болып табылады. Бұл процесс липидті компоненттердің өзгергіштігін арттырады, осылайша жақсы бөлінуді қамтамасыз етеді және талдау уақытын қысқартады [4,5].

Теориялық тұрғыдан майлы қышқылдардың метил эфирлерін алу күрделі жүйеде қайтымды химиялық реакциялармен байланысты. Методологиялық тұрғыдан, әдетте қолданылатын катализаторлар мен сатылардың түрімен сипатталатын көптеген әдістер бар. Оннан астам жалпы катализаторлар бар болғанымен, олардың көпшілігі қышқылға (HCl, H₂SO₄ және BF₃) немесе сілтілік түрлерге (NaOCH₃, KOH және NaOH) жатады, олардың әрқайсысының өзіндік каталитикалық қабілеті мен қолдану шектеулері бар. Сатыларға келетін болсақ, көптеген дәстүрлі әдістер, соның ішінде ресми

түрде танылғандар кептіру, бөлу, экстракция, тазарту, сілтілі гидролиз, трансметилизация/метилизация және постреакциялау. Бұл әдістер сенімді бағалауды қамтамасыз ете алады, бірақ егер сақтық шаралары қолданылса, олар ауыр, уақытты қажет етеді және шығындар тұрғысынан тиімсіз [6].

Химиктердің көзқарасы бойынша глицеридтерді май қышқылдарының метил эфирлеріне ауысу процестері май қышқылдарының карбоксил тобының көміртегі атомындағы нуклеофильді алмастыру реакциясы болып табылады және сынамада тіпті су мөлшерінің болуына сезімтал болады. Ылғалы жоқ майлар мен майларды хроматографиялық талдау кезінде ғана талданатын заттың ілмегі метилденетін реагенттің әсеріне тікелей ұшырауы мүмкін. Көптеген биологиялық препараттар-жануарлар мен өсімдіктер тіндері, бір клеткалы биомасса, қан және плазма препараттары, биологиялық сұйықтықтар үшін-судың жоғары (20-98%) құрамы тән: бұл жағдайларда липидтерді химиялық дериваттау кезінде мақсатты өнімнің қолайлы шығымын алу суды тиімді жоюды талап етеді (нуклеофильді агент метил спиртіне қарағанда әлдеқайда күшті). Осы мақсатта зертханалық тәжірибеде биологиялық сынамаларды алу әдетте жоғары алкоголь ерітінділерінің екілік қоспаларымен қолданылады [7]; сонымен қатар, май қышқылдарының хроматографиясын едәуір қиындата алатын липидті емес спиртте еритін қосылыстар (аминқышқылдары, көмірсулар, пигменттер, дәрумендер) сығындыларды тұздардың сулы ерітінділерімен жуу кезінде жойылады.

Липидтерді алудың ең жақсы нәтижелері классикалық [8] Милч әдісін (Folch) және оның әртүрлі модификацияларын қамтамасыз етеді деп саналады [9]. Бұл технология 2:1 қатынасында алынған (кейде 5-20% су немесе сұйылтылған сірке қышқылы қосылған) метанолмен хлороформ қоспасының 20 есе көлеміндегі үлгіні гомогенизациялауды және матрицалық материалдың қалдықтарын сүзу немесе центрифугалау арқылы бөлуді қамтиды. Одан кейін сығынды метанол мен спиртте еритін қоспаларды кетіру үшін 0,85% NaCl сулы ерітіндісімен (сығынды көлемінің 20%) жуылады. Еріткіш вакуумда шығарылады, ал липидті қалдық химиялық деривацияға ұшырайды.

Хара-Рэдиннің едәуір аз танымал әдісінде [9] сынамалар гептанның изопропанолмен, 3:2 қоспасында осы экстрагенттің 18 есе

көлемін қолдана отырып гомогенизацияланады; полярлық компоненттерді жуу үшін 0,5 мл натрий сульфатының ерітіндісі қолданылады (органикалық сығынды көлемінің 40%).

Басқа экстрагенттер (этанол, этилацетат, метил-трет-бутил және диэтил эфирлері негізіндегі қоспалар) салыстырмалы түрде сирек және тек ерекше жағдайларда қолданылады. Көптеген талдаушылар үшін күнделікті талдау да, биологиялық үлгілерді май қышқылды талдау саласындағы ғылыми-зерттеу эксперименталды жұмысы "милиция бойынша экстракция" ұғымымен тығыз байланысты деп сенімді түрде айтуға болады.

Сонымен қатар, көптеген зерттеушілер биологиялық үлгіден липидтерді алдын-ала экстракциялау принципін негізсіз деп санайды. Экстракция әдістерінің едәуір еңбек сыйымдылығы мен материалды қажетсінуі, алынатын липидтердің төмен шығуы, сығындыны тұздардың сулы ерітінділерімен жуу барысында полярлы липидтердің (ең алдымен қышқыл), гликолипидтер мен липопротеиндердің елеулі шығындары-осы кемшіліктердің барлығы дериватизациялайтын реактивпен зерттелетін материалды тікелей өңдеу барысында жойылуы мүмкін; су "суды кетіретін" реагенттің көп мөлшерімен (хлорлы ацетил, 2,2-диметокси-пропан, натрий метоксиді [10,11]) байланады немесе үлгіні тиімді алдын ала кептіру барысында алып тастайды [12–14].

Авторлардың пікірінше, мұндай әдіс талдау процедурасын едәуір жеңілдетуге мүмкіндік береді, оны биологиялық үлгіні вакуумды немесе азеотропты кептіруге және құрғақ қалдықты дериватизациялық реактивпен қысқа мерзімді өңдеуге дейін азайтады; мұнда тек бір үлгіні дайындау қажет екенін атап өткен жөн. Милч әдісі немесе Харадин әдісі үш бөлек зертханалық ыдысты қолдануды және жеті рет қатарынан орындауды қажет етеді. Дериваттандырудың экстракциялық емес әдісі полярлы және жоғары молекулалық липидті конъюгаттардың (органикалық сұйықтықтармен экстрагирленбейтін) сығындыларды тұзды ерітінділермен жуу кезінде суда еритін қышқыл липидтердің жоғалуын да жояды. Сонымен қатар, авторлар [10–14], әдетте, 25% – ға дейін көрсеткендей, Милч әдісі – пайдалану кезінде LCD метил эфирлерінің шығымдылығын арттыру экстракциялық емес дериваттау әдісі.

Алайда, үлгілердің май қышқылының құрамын анықтау үшін дериватизацияның әртүрлі сызбаларын қолдану бойынша жұмыстардың нәтижелерін сыни тұрғыдан қарау, олардың авторлары жасаған тұжырымдардың толық сипатына күмән тудырады.

Біріншіден, барлық осындай жұмыстар жоғары дисперсті нысандарды – бір клеткалы препараттарды (микроорганизмдер, эритроциттер) немесе жасушасыз (қан плазмасы және оның фракциялары, липопротеидтер және оларды фракциялау өнімдері) қолдану арқылы жүргізілді. Көпжасушалы ұлпалардан липидтерді алу тиімділігі зерттелетін қатты үлгілердің ұсақталу дәрежесіне қатты тәуелді болуы мүмкін, бірақ әдеби мәнімен экстракцияның дериватизациялық емес әдісінде туынды жануар немесе өсімдік тіндерінің бөлшектердің рұқсат етілген ең үлкен мөлшеріне қатысты ешқандай нұсқаулар бермейді.

Екіншіден, мұндай жұмыстардың авторлары әдетте дериватизацияның экстракциялық емес әдісінің нәтижелерін "канондық" нұсқаны қолдану нәтижелерімен салыстырды. Милч әдісі, яғни үлгіні хлороформ – метанолдың қарапайым қоспасымен алу, бұл кейбір жағдайларда дұрыс болмауы мүмкін. Шынында да, көптеген нысандар үшін (лиофилизацияланған ақуыздар, липопротеидтер, кептірілген микроорганизмдер) Милч әдісінің бастапқы нұсқасы нақты жарамсыз, өйткені полярлы биологиялық матрицадан фосфолипидтерді хлороформ – метанол – судың (5-15% су) үш қоспасы арқылы алуға болады. Фолчтың екілік қоспасы оларды тиімді түрде шығара алмайды. Мұндай нысандардан липидтерді алу кезінде көлемі бойынша шамамен 5% су бар метанол – хлороформ жүйесін қолданған жөн, ал сығындыны жуу кезінде қышқыл липидтердің жоғалуын азайту үшін 0,5–2,0% сірке қышқылының қоспасына енгізу керек.

Сүттегі май қышқылының құрамын газды хроматография әдісімен анықтау әдісі белгілі, 100 мл сүтті -15 минут ішінде центрифугалау 10000 айн/мин, 150 мл гексан қосып, жоғарғы май фракциясын бөлу үшін 3-5 минут ішінде максималды жылдамдықта блендермен араластырады немесе гомогенизациялайды, гексан қабатын бөлу және оны түбі дөңгелек колбаға ауыстыру, содан кейіннен ротациялық буландырғышты пайдалана отырып, су моншасында еріткішті 70°C температурада айдау (МЕМСТ 32915-2014. Мемлекетаралық стан-

дарт. Сүт және сүт өнімдері. Газ хроматографиясы әдісімен май фазасының май қышқылының құрамын анықтау) [15].

Алайда, белгілі сынама технология келесі кемшіліктерге ие:

- майқышқылды құрам нәтижелерін алу тиімділігінің төмендігі;
- еріткіштің көп мөлшерін тұтыну (150 мл);
- сынама дайындау ұзақтығы (75 мин);
- көптеген жабдықтар мен ыдыстарды қолдану (су моншасы, айналмалы буландырғыш, гомогенизатор, зертханалық блендер, центрифуга).

Мәлімделген техникалық шешімге ең жақын зерттеу сынама технологиясын дайындауды қамтитын газды хроматография әдісімен сүттің май фазасының майқышқылдық құрамын анықтау үшін сынамаларды дайындау тәсілі болып табылады. Дайындау үшін майдың салмақтық үлесі 2-6% болатын 15-45 г зерттелетін сүтті алады, 20 см³ органикалық еріткіш қосады, 3-5 мин магнитті араластырғышта араластырады, содан кейін 0,1-0,2 мл 45-55% лимон қышқылы ерітіндісін қосады. содан кейін қоспаны 3350-4560 RCF салыстырмалы үдеуімен 5-7 мин центрифугалайды. Органикалық еріткіш ретінде гексан, гептан, изооктан немесе олардың қоспасын қолдануға болады. Шығарылған органикалық сығынды май қышқылдарының метил эфирлерін дайындау және оларды газ хроматографиясы арқылы зерттеу үшін қолданылады [16].

Алайда, белгілі сынама технология келесі кемшіліктерге ие:

- лимон қышқылын пайдалану салдарынан майқышқылды құрам нәтижелерін алу тиімділігінің төмендігі, сондай-ақ лимон қышқылы ерітіндісін сақтау мерзімінің қысқалығы;

- еріткіштің көп мөлшерін тұтыну (20 мл);
- сынама дайындау ұзақтығы (25 мин);
- май фракциясын алу үшін сүтті магнитті араластырғышта араластыру кезінде қосымша операция енгізу.

Аталған әдістің міндеті-тезірек сынама алу, газ хроматографиясы арқылы май қышқылының құрамын талдау нәтижелерін тиімді алу және белгілі әдістердің кемшіліктерін жою.

2. Зерттеу материалдары мен әдістері.

2.1. Стандарттар, реагенттер және үлгілер.

Fame Supelco (Supelco, АҚШ) (тазалық; $\geq 99\%$ (GC); Sigma - Aldrich, Германия) 37-компоненттік қоспасының транс-және цис-май қышқылдарының метил эфирлерінің стандарттары «Лаборфарма» компаниясынан аналитикалық, арнайы хроматография үшін барлық еріткіштер мен реагенттер (метанол, толуол, мұздық сірке қышқылы, тұз қышқылы калий гидроксиді және натрий гидроксиді, н-гексан) «Лаборфарма» компаниясынан (Алматы қ., Қазақстан Республикасы) сатып алынды, олардың тазалығы жоғары (System, Малайзия, GC $\geq 99\%$ үшін).

2.2. Стандарттарды калибрлеу және дайындау

Хроматографиялық жүйені бітіру және жүргізілетін зерттеулердің сапасын бақылау Supelco (Supelco TM 37 Component FAME Mix) май қышқылдарының 37 метил эфирлері (F. A. M. E.) бар стандартты қоспа пайдаланылды. Ішкі стандарттың бастапқы ерітіндісі 0,1 г пентадекан қышқылын 10 мл гексанға еріту арқылы дайындалды. Жұмыс стандарттары барлық шешімдері талдауға дейін 20°C температурада сақталды.

Калибрлеу белгілі концентрациясы мен тазалығы бар 37 метил эфирі бар стандартты қоспаны қолдану арқылы жүзеге асырылды. Май қышқылын элюциялау уақытының сенімді аралығын есептеу үшін стандартты қоспаны хроматографиялау үш қайталауда жүргізілді (n=3).

Майлы қышқылдардың метил эфирлерінің құрамын есептеу ішкі қалыпқа келтіру (ішкі нормалау) әдісімен жүргізіледі. Стандартты қоспадағы компоненттің құрамын анықтау әдісі, онда кез-келген параметрлердің қосындысы, мысалы, барлық шыңдардың аудандарының қосындысы 100% қабылданады, содан кейін жеке шыңның ауданын аудандардың қосындысына қатынасы 100-ге көбейтілген кезде массалық үлесті сипаттайтын болады (%) стандартты қоспадағы компонент.

2.3. Үлгілерді алу және дайындау.

Көрсетілген нәтижеге зерттелетін үлгіні дайындауды қамтитын газды хроматография әдісімен сүттің майқышқылдық құрамын анықтау үшін сынамаларды дайындау технологиясын қолдану арқылы қол жеткізіледі, айырмашылығы майдың салмақтық үлесі 3% - дан асатын зерттелетін сүттің үлгісі 10000 айналым кезінде 10 минут центрифугаланады, центрифугаланған зертханалық сынамадан пробиркаға

жоғарғы бөлігінен 20 мкл май алынады. содан кейін 2 см³ органикалық еріткіште (гексан) ерітеді, содан кейін 1-2 минут қолмен араластырады, кейін алынған ерітіндіге 2 молярлық концентрациядағы натрий метилатының 100 мкл ерітіндісі тамшуырман қосылады және пробирканы тығынмен жабады, кейін 2 минут қолмен қарқынды араластырады, кейін 5 минут тұндырылады және құрамында метил эфирлері бар жоғарғы қабат қағаз сүзгісі арқылы сүзіледі және алынған ерітінді газды хроматография әдісімен зерттеуге дайын болады.

Мысалы, нақты жүзеге асыру тәсілі.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті КЕАҚ Қазақстан-Жапон инновациялық орталығының құрылымдық бөлімшесінің негізінде сүттегі майқышқылдық құрамын газ хроматографиясы әдісімен анықтау бойынша зерттеу жүргізілді. Зерттеуге майдың салмақтық үлесі 3% - дан асатын, айналымы 10000 айналым/мин болатын 10 мин центрифугаланып талданатын сүтті дайындауды қамтиды; центрифугаланған зертханалық сы-

намадан пробиркаға сынаманың жоғарғы қабатынан 20 мкл май алады, содан кейін 2 см³ органикалық еріткіште (гексан) ерітеді, содан кейін 1-2 минут қолмен араластырады, алынған ерітіндіге 2 молярлық концентрациядағы натрий метилатының 100 мкл ерітіндісін тамшуырман қосады және пробирканы тығынмен жабады, ары қарай 2 минут қолмен қарқынды араластырады, кейін 5 минут ұстайды және метил эфирлері бар жоғарғы қабат қағаз сүзгісі арқылы сүзіледі. Алынған ерітінді Agilent Technologies CP-Sil 88 Fame 100m*0.25 mm*0.2 μm капиллярлық бағанымен және жалын-ионизациялық детектормен (PID) Shimadzu GC-2010 Plus газ хроматографында зерттеуге дайын.

Нәтижелер және оларды талқылау.

Ұсынылған және белгілі технологиялармен сүт майының май қышқылды құрамын анықтау кезінде сынама дайындау уақыты, реактивтердің саны мен шығыны 1-кестеде келтірілген.

Кесте 1.

№	Атауы	Белгілі әдіс (МЕМСТ 32915-2014)	Белгілі әдіс (RU №2639817C1)	Ұсынылған әдіс
1	Гексан шығыны, мл	150	20	2
2	Сынама дайындау уақыты, мин	75	25	19
3	Сынамалар саны, мл	100	30	20

Жоғарыда сипатталған сынамалар технологиясын дайындаудың үш әдісін қолдану арқылы алынған хроматографиялық анықтамалардың нәтижелерін салыстыру, олардың метрологиялық сипаттамаларының жақындығын көрсетеді. Екі сынама технологиясы үлгілерден липидтердің жоғары алынуын қамтамасыз етті (90% - тен астам) және хроматографиялық анықтамаларға тең нәтижелердің салыстырмалы қателіктері (3-7%). Екі технологиямен алынған нәтижелердің сәйкестігін неғұрлым нәзік сандық бағалау үшін кестеде әр түрлі сипаттағы биологиялық объектілердегі жеке концентрациясының еркін өлшемсіз қатынастарының орташа мәндері мен сенімділік аралықтары (95% сенімділік кезінде) келтірілген.

Жеке май қышқылдарының құрамын хроматографиялық анықтау нәтижелері көбінесе салыстырмалы шамаларда (барлық жеке май қышқылдарының шындары аудандары-

ның қосындысынан үлестерде) және сирек — абсолютті шамаларда (мг/л, мкг/мл) келтіріледі.

Әрине, бірінші жағдайда үлкен "ақпараттық сыйымдылық" қателіктердің едәуір азаюымен және соңғысында нәтижелердің (соның ішінде зертханааралық) көбеюінің жақсаруымен өтеледі.

2 –ші кестеден көрініп тұрғандай, біз ұсынған натрий метилаты ерітіндісін қолдана отырып, гексан сығындысын тікелей алу әдісі май қышқылдарының метил эфирлерін алу үшін қолданылады, классикалық әдісті қолдану арқылы алынған нәтижелерден статистикалық айырмашылығы жоқ нәтижелер алуға мүмкіндік береді. Нәтижелердің екі сериясындағы сенімділік интервалдарының мәндерінің жақындығы параметрлердің таралуы үлгілерді алдын-ала дайындау ерекшеліктерімен байланысты факторларға емес, хроматографиялық таби-

ғаттың себептеріне (буландырғыштағы компоненттерді кемсіту, кіші шындарды инте-

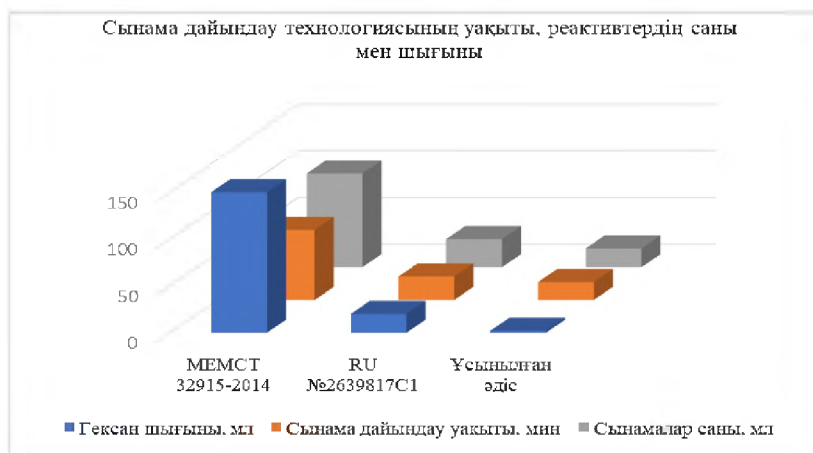
грациялаудың дәл еместігі және т.б.) байланысты екенін көрсетеді.

Кесте 2. Өртүрлі сынама дайындау технологиясын қолдана отырып, газды хроматография әдісімен анықталған май қышқылдарының эксперименттік мәні сынаманы дайындау

Май қышқылдарының атауы	Май қышқылдарының қысқаша белгіленуі	Концентрациясы ($X \pm \Delta X$; $p < 0,05$; $n = 7$)			
		МЕМСТ Р 52253-2004 бойынша норма	МЕМСТ 32915-2014 бойынша май қышқылдарының мөлшері	RU 2639817C1 бойынша май қышқылдарының мөлшері	Мәлімделген әдіс бойынша май қышқылдарының мөлшері
Маслян	C _{4:0}	2,0-4,5	2,0±0,07	2,05±0,07	2,09±0,07
Капрон	C _{6:0}	1,5-3,0	1,7±0,06	1,8±0,06	1,6±0,06
Каприл	C _{8:0}	1,0-2,0	1,14±0,03	1,14±0,03	1,14±0,03
Каприн	C _{10:0}	2,0-3,5	2,97±0,09	2,97±0,09	2,97±0,09
Лаурин	C _{12:0}	2,0-4,0	3,75±0,11	3,7±0,11	3,72±0,11
Миристикалық	C _{14:0}	8,0-13,0	11,81±1,07	11,81±1,07	11,81±1,07
Пальмитин	C _{16:0}	22,0-33,0	32,49±3,12	32,49±3,12	32,49±3,12
Стеарин	C _{18:0}	9,0-13,0	12,7±1,17	12,7±1,17	12,7±1,17
Арахин	C _{20:0}	-	0,09±0,01	0,09±0,01	0,09±0,01
Миристинолеин	C _{14:1}	0,6-1,5	1,24±0,06	1,24±0,06	1,24±0,06
Пальмитоле	C _{16:1}	1,5-2,0	2±0,07	2±0,07	2±0,07
Олеин (омега 9)	C _{18:1n9e}	22,0-32,0	25±2,17	25±2,17	25±2,17
Линол (омега6)	C _{18:2n6e}	3,0-5,5	2,96±0,08	2,96±0,08	2,96±0,08
Пентадецил	C _{15:0}	3,0-4,5	3,41±0,11	3,41±0,11	3,41±0,11
Маргарин	C _{17:0}	2,0-4,0	2,87±0,09	2,87±0,09	2,87±0,09
Элаидин	C _{18:1n9t}	-	0,99±0,01	0,99±0,01	0,99±0,01

Осылайша, 1 суретте көрініп тұрғандай, біз ұсынған технологияның басты артықшылығы-хроматографиялық талдау үшін сынамаларды дайындауды түбегейлі жеңілдету және жеделдету. Бұл әдіспен үлгіні дайындау процесі жоғары білікті кадрларды қажет етпейтін қарапайым операциялардың тізбегін орындау болып табылады және жалпы қабылданған Сұлбыдан айырмашылығы, оны автоматтандыру оңай. Бұл әдісті зертха-

наларда СКД құрамының үлкен скринингтік анықтамаларын жүргізу үшін қолдануға болады, газ хроматографиялық талдаулар жүргізу үшін үлгілерді дайындауды едәуір жеңілдетеді және аналитикалық технологияны оңтайландырады. Дериватизацияның ұсынылған әдісі пайдалы және май қышқылдарын хроматографиялық анықтауды кеңінен қолдануға негіз бола алады.



Сурет 1. Сынама дайындау технологиясының уақыты, реактивтердің саны мен шығыны.

Қорытынды

Салыстырмалы зерттеу бізге классикалық әдістерінен май қышқылын анықтау үшін үлгіні дайындау технологиясының экстракциялық емес әдісімен салыстырғанда айтарлықтай артықшылықтарды анықтауға мүмкіндік бермеді. Өзірленген әдіс осал емес, бірақ көптеген жағдайларда мақсатты заттарды алудың едәуір жоғары дәрежесін қамтамасыз етеді, хроматографиялық үлгіні дайындау процедурасын түбегейлі жеңілдетуге және жеделдетуге, материалдардың шығынын да, үлгінің ластану немесе тотығу қаупін де күрт төмендетуге мүмкіндік береді. Бұл технология сүт және май өнімдерін зерттеуде өте тиімді.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Кабагамбе Э. К. Қан плазмасындағы n6 май қышқылдарының деңгейі CD4 жасушаларының санына, ауруханаға жатқызуға және АИТВ жұқтырған науқастарда өлімге байланысты // J. Acquir. Immундық тапшылық. Синдр. NIH Public Access, 2016.- Көлемі 73.- № 5.- 598 б

2. Нұрғалиева М.Т. et al. Тамақ өнімдерінің майқышқылдық құрамын анықтау үшін газохроматографиялық аспапты калибрлеу//Ізденістер, нәтижелер. Зерттеулер, нәтижелер. 2019.- № 1.- Б. 79-85.

3. Финк Х., Шала туылған нәрестелерге арналған тамақ көздеріндегі май қышқылдары. 2013.

4 Жоғары тиімді сұйық хроматография, газ хроматографиясы және онымен байланысты әдістер арқылы май қышқылдарын талдауды дамыту // Anal. Чим. Акт. Elsevier, 2002. Көлемі 465, № 1-2.- 1-37 Б.

5. Лю К.-С., Биологиялық материалдардағы липидтерді газохроматографиялық талдау үшін май қышқылдарының метил эфирлерін алу//J. Am. Oil Chem. Soc. Springer, 1994, Т. 71.- № 11.- 1179-1187 Б.

6. Карвалью А.П., Мальката Ф.Х., Теңіз липидтерін газохроматографиялық талдау үшін май қышқылдарының метил эфирлерін алу: аналитикалық зерттеулер // J. Agric. Тамақ химиясы. ACS басылымдары, 2005.- Көлемі 53.- № 13.- 5049-5059 Б.

7. Рейс А. және т.б., Адамның LDL липидомиялық зерттеулеріне арналған липидті алудың бес еріткіш жүйесін салыстыру [S] // J. Lipid Res. АСБМБ, 2013, Т.54.- № 7.- 1812-1824 Б.

8. Халық Дж., Слоан Стэнли г. Х., Жануарлар тіндерінен жалпы липидтерді окшаулау мен тазартудың қарапайым әдісі // J Biol Chem, 1957.- Көлемі 226.- № 1.- Б. 497-509.

9. Хара А., Радин Н.С., Тіндердің липидтерін уыттылығы төмен еріткішпен экстрак-

циялау // Анал. Биохимия. Эльзевир, 1978.- Көлемі 90.- № 1.- Б.420-426.

10. Гриффиттер М., Ван Хилл Р.П., Харрисон С.Т.Л., Микробалдырлардағы май қышқылдарының құрамын анықтаудың таңдаулы әдісі ретінде тікелей перээтерификацияны таңдау//липидтер. Спрингер, 2010.- Т. 45.- № 11. 1053-1060 Б.

11. Лепаж Г., Рой К. С., Алдын ала экстракциясыз немесе тазартусыз тікелей перээтерификациялау арқылы май қышқылдарын өндіруді жақсарту. // J. липидті отвар . Эльзевир, 1984 Көлемі 25.- № 12.- 1391-1396 Б.

12. Саттлер В. және т. б., Липопротеиндердің негізгі кластарындағы май қышқылдарын капиллярлық газ хроматографиясы арқылы анықтау: лиофилизацияланған үлгілерді BF3/метанолмен қайта этерификациялау милиция арқылы экстракцияның орнына жоғары нәтиже береді // Anal. Биохимия. Эльзевир, 1991.- Көлемі 198.- № 1.-С. 184-190.

13. Лакшми Р.және т. б., Бақылау зерттеулерінде холестерин мен триглицеридтердің деңгейін өлшеу үшін кептірілген қан дақтарының пайдалылығы. Sage басылымдары, 2010.

14. Ариповский А.В. және т. б., Май қышқылдарын газохроматографиялық анықтау үшін сынамаларды дайындау: кептірілген биологиялық сынамалардың липидтерін тікелей перээтерификациялаумен экстракциясыз әдістің артықшылықтары // Клиникалық зертханалық диагностика. "Медицина" баспасы " ААҚ, 2018.- Көлемі 63.- № 3.- С. 141-147.

15. ГОСТ 32915-2014 // 2014. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200115746> . Standard-0014-17p

16. Евлов Х. Х., Козлов С. и. газды хроматография әдісімен сүттің май фазасының май қышқылының құрамын анықтау үшін сынамаларды дайындау әдісі. 2017.-476.

17. Тавернье И., Де Луз М., Ван Бокстаэль Э., Аналитикалық зертханадағы сапа тенденциялары. II. Аналитикалық әдістердің валидациясы және сапаны қамтамасыз ету // TrAC тенденцияларын талдау. Хим., Эльзевир.- 2004. Көлемі 23.- № 8. Б.535-552.

18. Филлипс К. М., Ругио Д. М., Раманна К. Р., Таңбаланбаған нан өнімдерінде транс майларды анықтаудың стандартты газохроматографиялық әдісін оңтайландыру // Азық-түлік талдауы. Әдістері. Спрингер, 2010.- Т.3.- № 4.- 277-294 Б

REFERENCES

1. Kabagambe E.K. et al. Plasma n6-fatty acid levels are associated with CD4 cell counts, hospitalization and mortality in HIV-infected patients // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. NIH Public Access, 2016. Vol. 73.- № 5.- P. 598.

2. Nurgalieva M.T. et al. Kalibrovka

gazokhromatograficheskogo pribora dlya opredeleniya zhirnokislотного состава pishhevyy`kh produktov // Izdani`ster, natizheler. Issledovaniya, rezul`taty`. 2019. № 1.- P. 79–85.

3. Fink N.H. Fatty Acids in Nutrition Sources for Preterm Infants. 2013.

4. Brondz I. Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques // Anal. Chim. Acta. Elsevier, 2002, Vol. 465, № 1–2.- P. 1–37.

5. Liu K.-S. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic analysis of lipids in biological materials // J. Am. Oil Chem. Soc. Springer, 1994. Vol. 71.- № 11.- P. 1179–1187.

6. Carvalho A.P., Malcata F.X. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic analysis of marine lipids: insight studies // J. Agric. Food Chem. ACS Publications, 2005, Vol. 53.- № 13.- P. 5049–5059.

7. Reis A. et al. A comparison of five lipid extraction solvent systems for lipidomic studies of human LDL [S] // J. Lipid Res. ASBMB, 2013, Vol. 54.- № 7.- P. 1812–1824.

8. Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J Biol Chem. 1957. Vol. 226.- № 1.- P. 497–509.

9. Hara A., Radin N.S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent // Anal. Biochem. Elsevier, 1978. Vol. 90.- № 1.- P. 420–426.

10. Griffiths M.J., Van Hille R.P., Harrison S.T.L. Selection of direct transesterification as the preferred method for assay of fatty acid content of microalgae // Lipids. Springer, 2010, Vol. 45.- № 11.- P. 1053–1060.

11. Lepage G., Roy C.C. Improved recovery

of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. // J. Lipid Res. Elsevier, 1984, Vol. 25.- № 12.- P. 1391–1396.

12. Sattler W. et al. Determination of fatty acids in the main lipoprotein classes by capillary gas chromatography: BF₃/methanol transesterification of lyophilized samples instead of Folch extraction gives higher yields // Anal. Biochem. Elsevier, 1991, Vol. 198.- № 1. P. 184–190.

13. Lakshmy R. et al. Utility of dried blood spots for measurement of cholesterol and triglycerides in a surveillance study. SAGE Publications, 2010.

14. Aripovskij A.V. et al. Podgotovka prob dlya gazokhromatograficheskogo opredeleniya zhirny`kh kislot: preimushhestva beze`kstrakcionnogo metoda s pryamoj peree`terifikaciej lipidov vy`sushenny`kh biologicheskikh prob // Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. OAO «Izdatel`stvo «Medicizina», 2018. Vol. 63.- № 3. P. 141–147.

15. GOST 32915-2014 [Electronic resource] // 2014. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200115746>. Standard 2014-17p

16. Avloev Kh.Kh., Kozlov S.I. Spособ podgotovki prob dlya opredeleniya zhirnokislотного состава zhirovoj fazy` moloka metodom gazovoj khromatografii. 2017.

17. Taverniers I., De Loose M., Van Bockstaele E. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance // TrAC Trends Anal. Chem. Elsevier, 2004, Vol. 23.- № 8.- P. 535–552.

18. Phillips K.M., Ruggio D.M., Amanna K.R. Optimization of standard gas chromatographic methodology for the determination of trans fat in unlabeled bakery products // Food Anal. Methods. Springer, 2010, Vol. 3.- № 4.- P. 277–294.

ӘОЖ 637.524.2
ҒТАХА 65.59.31

<https://doi.org/10.48184/2304-568X-2022-3-13-18>

ПІСІРІЛГЕН ШҰЖЫҚ ӨНДІРІСІНДЕ ИТМҰРЫН ЖЕМІСТЕРІНЕН ЖАСАЛҒАН ҰНТАҚТЫ ҚОЛДАНУ

¹А.Қ. ҚҰРМАНБЕКОВА, ¹А.М. ТАЕВА, ¹Н.Қ. АХМЕТОВА, ¹Ә.Ч. БАЗЫЛХАНОВА*

(¹ «Алматы технологиялық университеті» АҚ, Қазақстан, 050012, Алматы қ., Төбе би көш., 100)
Автор-корреспонденттің электрондық поштасы: ebazylkhanova@bk.ru*

*Бұл ғылыми мақалада ет өнімдерін байыту және ассортиментін кеңейту мақсатында өсімдік шикізатын пайдалану мәселесі қарастырылған. Өсімдік тектес шикізат ретінде итмұрын жемістерінен (*Rosae fructus*) ұнтақ таңдалды. Нормативтік-техникалық құжаттамаға сәйкес пісірілген шұжықтардың тәжірибелік үлгілерінің рецептуралары жасалды. Итмұрын (*Rosae fructus*) ұнтағы тәжірибелік үлгілердің рецептурасына шикізат массасынан 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5% мөлшерде енгізілді. Дайын бұйымдарға физикалық-химиялық және органолептикалық зерттеулер жүргізілді, олардың нәтижелері бойынша жаңа ет өнімінің рецептурасын әзірлеу үшін итмұрын жемістерінен (*Rosae fructus*) жасалған ұнтақтың оңтайлы мөлшері 1,5% болып іріктелді. Әзірленген өнім көмірсулардың, ақуыздардың, ылғалдың жоғары құрамымен ерекшеленді және майлардың*