

водородного показателя при воздействии на них магнитного поля переменного тока промышленной частоты, описанные в работах [2, 3].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология. Т. 1. — М.: Мир, 1990.

- Александров А.Б., Александров Б.Л. О потенциале ионизации атомов и молекул // Тр. КГАУ. Вып. 370 (398). — Краснодар, 1998.
- Александров Б.Л., Александров А.Б., Богатырев Н.И. Ионизация воды в магнитном поле в условиях резонанса электромагнитных процессов // Там же.

Кафедра неорганической и аналитической химии

Поступила 25.02.2000 г.

639.337.002.637:543.54

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИСТАМИНА МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Л.И. ПИЛЬ, Т.В. БОЗИНА, О.П. МИРОНОВА

Кубанский государственный университет

В некоторых продуктах питания в процессе хранения гистамин накапливается до токсического уровня, поэтому необходим контроль его содержания [1]. Существует несколько методов определения гистамина [2–8]. Наиболее простым и не требующим дорогостоящего оборудования является метод тонкослойной хроматографии. Его недостаток — в сложности обработки результатов анализа. Для решения этой проблемы был разработан программно-аппаратный комплекс, позволяющий определять площади пятен на хроматографических пластинках автоматически.

При разработке методики необходимо было выбрать оптимальные неподвижные и подвижные фазы, проявитель, режим хроматографирования, метод подготовки пробы и обработки результатов эксперимента. Исследовали три неподвижные фазы (СТХ-1А, СТХ-1ВЭ, Silufol-UV 254). Наиболее четким и пригодным для количественного определения было изображение пятен на пластинке марки Silufol-UV 254. При выборе подвижной фазы опробовали более 30 элюирующих систем. В качестве оптимальной выбрана система этанол—аммиак (7:3). При ее использовании  $R_f$  гистамина равен 0,33–0,35. Для проявления пятен гистамина применяли 0,5%-й раствор нингидрина в изоамиловом спирте, при котором хроматографическая картина была наиболее четкой. Полученные пятна производного гистамина устойчивы в течение 12 ч.

На модельных растворах провели исследование влияния гистидина на определение гистамина. Установлено, что эти вещества имеют близкие значения  $R_f$  — 0,35 и 0,43. Для отделения гистамина от гистидина применили прием двойного элюирования. Хроматографическую пластинку с нанесенными на нее пробами опускали в раствор подвижной фазы и проводили хроматографирование до того момента, пока фронт растворителя не прошел примерно половину пути. Пластинку вынимали и высушивали. Затем ее снова опускали в раствор того же состава и проводили хроматографирование до конца. Использование этого приема позволило разделить смесь гистидина и гистамина,  $R_f$  составил соответственно 0,68 и 0,36.

При хроматографировании образцов рыбы некоторые амины и аминокислоты, которые не удалось отделить при пробоподготовке, мешают определению гистамина. Они имеют величину  $R_f$  больше,

чем у гистамина, и при проявлении нингидрином оставляют сзади себя след, сравнимый по интенсивности с пятном гистамина. Данная проблема была решена при проведении двумерной хроматографии на пластинках размером 10×10 см с использованием двойного элюирования в системе растворителей этанол:аммиак (7:3) в обоих направлениях. Одновременно с анализируемым раствором на пластинку наносили два раствора стандарта, что позволяло производить идентификацию гистамина на полученной хроматограмме. Оптимальный объем пробы, нанесенной на пластинку, 3 мкл.

Большое внимание уделяли пробоподготовке исследуемых образцов. Выбрали вариант пробоподготовки, основанный на ряде избирательных экстракций гистамина в *n*-бутанол и соляную кислоту [4], и модифицировали его применительно к тонкослойной хроматографии. В ходе такой пробоподготовки в пробе оставалось минимальное количество мешающих определению гистамина аминов и аминокислот.

Для количественного определения гистамина использовали метод градуировочного графика. В диапазоне концентраций 0,5–4 мг/мл гистамина зависимость  $\sqrt{Q}$  от  $\ln m$  линейная ( $Q$  — площадь пятна,  $m$  — масса вещества в пятне).

Таблица

Показатели	Содержание гистамина в образцах, мг/кг	
	1	2
Номер определения:		
1	94,3	103,2
2	92,1	102,8
3	91,8	104,1
4	94,5	104,4
5	93,9	103,7
S	1,3	0,6
$\bar{X} \pm \Delta$	93,3 ± 1,8	103,6 ± 0,8

Для определения площади пятна на базе персонального компьютера и устройства ввода изображения — сканера был разработан программно-аппаратный комплекс. Изображения хроматографи-

ческих пятен посредством сканирования вводили в память компьютера и обрабатывали.

Применение такого комплекса позволило решить вопросы документирования, хранения, обработки и вычисления результатов анализа гистамина, проводимого методом тонкослойной хроматографии.

Разработанная методика была опробована на образцах рыбы. Полученные результаты представлены в таблице ( $n = 5$ ;  $P = 0,95$ ). Проведенная метрологическая оценка методики выявила следующие ее характеристики: предел обнаружения метода — 75 мг/кг, степень извлечения добавленного к образцу стандарта гистамина — 92–96%. Общее время анализа 2,5 ч.

#### ВЫВОДЫ

1. Разработана методика определения гистамина в рыбе методом тонкослойной хроматографии. Выбран сорбент для проведения анализа — пластинки для хроматографирования марки Silufol (10×10 см). Определена оптимальная смесь растворителей для хроматографирования — этанол:аммиак (7:3). Подобран проявитель для обнаружения гистамина — 0,5%-й раствор нингидрина в изоамиловом спирте.

2. Предложено проведение двумерной хроматографии с применением двойного элюирования для более полного отделения гистамина от мешающих определению веществ.

3. Разработан программно-аппаратный комплекс, предназначенный для автоматизации обработки результатов анализа, повышающий объективность и экспрессность метода.

4. Проведены метрологические исследования и установлены некоторые метрологические характеристики разработанной методики анализа.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Методические указания по фотометрическому определению гистамина в рыбопродуктах. (Доп. к документу "Временные гигиенические нормативы и методы определения содержания гистамина в рыбопродуктах". СанПиН 42-123-4083-86). — М.: ОНТИ ВНИРО, 1988.
2. Rosier Jan., Van Peteghem Carlos. A screening method for the simultaneous determination of putrescine, cadaverine, histamine, spermidine in fish by means of HPLC of their 5-dimethylaminonaphthalene-1-sulphonyl derivatives // Z. Lebensm.-Untersuch. und Forsch. — 1988. — 186 (1). — S. 25-28.
3. Cunningham L.V., Matsen J.M., Bremer R.A., Hill H.R. Gas-chromatographic determination of microgram and nanogram quantities of histamine as its Na-trifluoroacetyl-Nim-carbethoxyderivative // Anal. Lett. — 1976. — 9 (4). — P. 405-417.
4. Галутва О.А., Головин А.Н., Крюкова Е.В., Жукова Г.Ф. Определение содержания гистамина в рыбных продуктах // Рыбное хоз-во. — 1987. — № 9. — С. 73-74.
5. Thin-layer and high-pressure liquid chromatographic determination of histamine in fish tissues / G. Kalligas, J. Kanion, G. Zacharidis et. al. // J. Liquid Chromatogr. — 1994. — 17 (11). — P. 2457-2468.
6. Gouygou J.P., Singuin C., Durand P. HPLC determination of histamine in fish // J. Food Sci. — 1987. — 52 (4). — P. 925-927.
7. Oxygen-sensor-based simple assay of histamine in fish using purified amineoxidase / Ohashi Mino y., Nomura Fumiko, Suzuki Hieko et. al. // Ibid. — 1994. — 59 (3). — P. 519-522.
8. Selective determination of histamine by flow-injection analyses / J.M. Hungerford, K.D. Walker, M.M. Wekell et.al. // Anal. Chem. — 1990. — 62 (18). — P. 1971-1976.

Кафедра аналитической химии

Поступила 27.10.98 г.