

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ПРЕМІКСІВ ЗА ВМІСТОМ ХОЛІН ХЛОРИДУ МЕТОДОМ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ

Г. П. Ривак

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

У статті визначено актуальність впровадження альтернативного методу капілярного електрофорезу для визначення вмісту холін хлориду в преміксах, описано умови та схему проведення аналізу, а також подано результати визначення вмісту холін хлориду в стандартному та дослідних зразках преміксів за допомогою приладу «Капель-105/105М», який обладнаний спеціальним програмним забезпеченням на основі персонального комп'ютера.

Холін або вітамін В₄ є одним із необхідних вітамінів у організмі тварин і птиці, участь його у фізіологічних, обмінних процесах науково доведена та обґрунтована, відомий і його зв'язок з іншими вітамінами, амінокислотами, а також поживними речовинами корму [5].

Враховуючи, що забезпечення потреби організму тварин та птиці в холіні з кормами є частковою, кормовий раціон потребує додаткового його внесення у формі синтетичного холіну хлориду з преміксами чи кормовими добавками [3].

На сьогоднішній день на ринок України поступає велика кількість імпортних і вітчизняних преміксів, які містять холін хлорид у різних концентраціях, у залежності від відсоткового внесення преміксу до комбікорму, а також від виду чи віку тварин і птиці, для яких він використовується.

Зважаючи на широкий вибір преміксів, виробникам комбікормів важливо визначитися з якісним продуктом, який забезпечував би оптимально всі потреби виробництва та годівлі тварин і птиці. При цьому контролювання преміксів за вмістом вітамінів, у тому числі за вмістом холін хлориду, є необхідною умовою для встановлення його якості, а метод контролювання повинен відповідати сучасним вимогам і забезпечувати визначення фактичного вмісту цього вітаміну [4].

У лабораторній практиці для визначення холіну в біологічних матеріалах, кормах, преміксах та кормових добавках розроблено цілий ряд методів досліджень: гравіметричний, спектрометричний, флюорометричний, ферментативний, мікробіологічний, а також газо- і рідинно-хроматографічні. Європейські референс-лабораторії та сучасні іноземні фірми найчастіше використовують газо- та рідинно-хроматографічні методи досліджень, а також спектрометричний метод фз використанням специфічної реакції холіну із сіллю Рейнеке. Кожен із цих методів має свої позитивні сторони та недоліки.

Як альтернативний, в лабораторії контролю кормових добавок і преміксів ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, впроваджено метод капілярного електрофорезу для контролювання якості преміксів за вмістом холін хлориду.

Метод капілярного електрофорезу дозволяє аналізувати іонні та нейтральні компоненти різноманітної природи з високою ефективністю, оскільки розділення проходить в обмеженому просторі (капілярі) з участю рухомої рідкої фази (буферного розчину), а для реєстрації сигналів використовують подібні принципи детектування та програмної обробки даних, як у хроматографії [1].

В основі методу закладено електрокінетичні явища — електроміграцію іонів та інших заряджених частинок і електроосмос. Ці явища виникають у розчинах при розташуванні їх в

електричному полі, переважно, високої напруги. Якщо розчин знаходиться в тонкому капілярі, то електричне поле, яке знаходиться вздовж капіляра, викликає в ньому рух заряджених частинок і пасивний потік рідини, в результаті чого проба розділяється на індивідуальні компоненти, оскільки параметри електроміграції специфічні для кожного виду заряджених частинок.

Перевагами методу капілярного електрофорезу є: висока ефективність розділення зразка; відсутність колонки, сорбенту; швидкість досліджень; невеликий об'єм аналізованої проби і буферів, при цьому практично непотрібне застосування високочистих, дорогих органічних розчинників; .

Метод капілярного електрофорезу з успіхом застосовується для аналізу різноманітних речовин (неорганічних і органічних катіонів і аніонів, амінокислот, вітамінів, барвників, білків тощо) та для технологічного контролю виробництва, входного контролю сировини, аналізу фармацевтичних препаратів і харчових продуктів, в криміналістиці, медицині, біохімії тощо.

Матеріали і методи. Для визначення вмісту холін хлориду в преміксах було застосовано метод капілярного електрофорезу за допомогою системи капілярного електрофорезу “Капель-105/105М” із позитивною полярністю джерела високої напруги, касетою з капіляром, внутрішній діаметр якого 75 мкм, повна довжина 60 см, оснащена спеціальним програмним забезпеченням на основі персонального комп'ютера [2].

У період проведення дослідження в приміщенні лабораторії були дотримані такі умови: температура повітря 20,8 °С; вологість повітря 69 %; напруга в мережі 220 В; частота перемінного струму (50±1) Гц.

У лабораторних умовах з використанням стандартних зразків вітамінів фірми “Sigma-Aldrich” було приготовано дослідні зразки преміксів, в складі яких були жиро- та водорозчинні вітаміни у відповідних кількостях. Відрізнялися вони лише різними концентраціями холін хлориду: премікс № 1 — 35,0 %, № 2 — 10,0 %, № 3 — 2,0 %.

Для проведення досліджень було здійснено такі роботи: підготовка капіляру до аналізу, приготування буферних, калібрувальних і контрольних розчинів, калібрування системи капілярного електрофорезу “Капель-105/105М” і підготовка проб. Аналіз зразків проводили при відповідних параметрах приладу (табл. 1).

Таблиця 1

Параметри приладу “Капель-105/105М”

Схема аналізу	Умови досліджень
Компоненти, що визначаються	холін хлорид
Довжина хвилі, нм	267
Температура, °С	40
Введення проби	30 мбар, 5 с
Напруга, кВ	20
Час аналізу, хв	5

Результати й обговорення. Для визначення вмісту холін хлориду в преміксах було побудовано калібрувальний графік та перевірено його стабільність за допомогою контрольного розчину, аналізуючи не менше двох разів в умовах, відповідних аналізу калібрувального розчину. Виставлено ширину вікна ідентифікації 5 % і на отриманих електрофореграмах перевірено автоматичну ідентифікацію компоненту. Дані щодо концентрацій холін хлориду, отриманих при аналізі стандартних розчинів подано у таблиці 2.

Дані щодо побудови калібрувального графіка для визначення холін хлориду

№ калібрувальної суміші	Час виходу піку, хв.	Висота піку	Площа піку	Концентрація, мг/л
1	3.837	8.654	190.4	100.0
2	3.857	1.873	22.16	10.20
3	3.735	0.412	4.278	2.08

Значення відхилень у кожній точці калібрувальної кривої не перевищував 5 %, коефіцієнт кореляції, розрахований програмою, перевищував 0,99.

Калібрувальний графік, побудований у трьох точках для визначення вмісту холін хлориду наведено на рисунку 1.

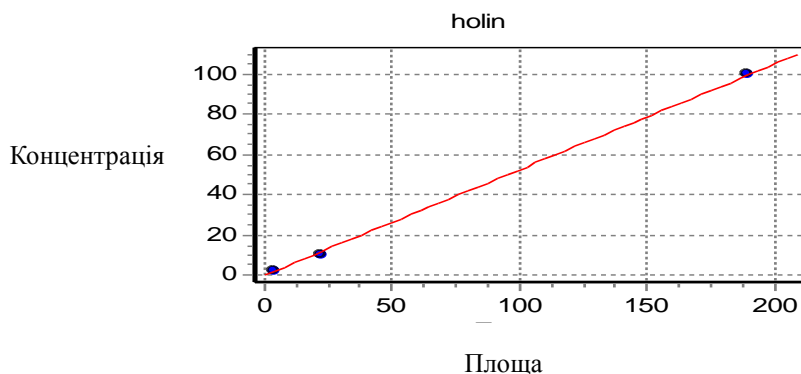


Рис. 1. Калібрувальний графік стандарту холін хлориду

У відповідних умовах було проведено аналіз приготованих преміксів і отримано результати у вигляді електрофореграм. На рисунку 2 подано електрофореграму аналізу преміксу № 1 за вмістом холін хлориду, дані щодо результатів аналізу всіх дослідних зразків — у таблиці 3.

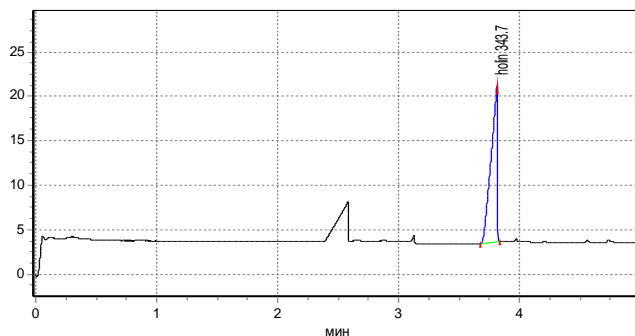


Рис. 2. Електрофореграма вмісту холін хлориду в дослідному преміксі № 1

Результати визначення вмісту холін хлориду в дослідних преміксах

№ дослідного зразка	Час виходу піку, хв.	Висота піку	Площа піку	Концентрація, мг/л	Вміст холін хлориду, %
1	3.817	17.782	654.4	343.7	34,37
2	3.948	13.310	221.4	116.3	11,23
3	3.900	4.784	35.94	18.88	1,89

У подальшому було проведено порівняння отриманих результатів із фактично внесеними кількостями холін хлориду в склад дослідних преміксів і розраховано похибку. Отриманий результат вмісту холін хлориду в складі преміксу № 1 був менший на 1,8 %, у

преміксі № 2 — на 12,3 % вищим, а в преміксі № 3 — на 5,5 % меншим від фактично внесених кількостей.

Відносна розширена невизначеність вимірювань згідно з цією методикою при коефіцієнті обхвату $k=2$ складає не більше 15 %, що підтверджується отриманими результатами. Час виходу піків та їх площа коливалися у межах, допустимих для даного приладу та атестованої методики досліджень.

ВИСНОВКИ

Отримані результати досліджень свідчать, що метод капілярного електрофорезу, проведений на приладі “Капель-105/105М”, є відтворюваним, достатньо точним та вірогідним у випадку досліджень преміксів за вмістом холін хлориду. Похибка між внесеними кількостями та отриманими результатами коливається в межах від 1 до 15 %, у залежності від виду та концентрації холін хлориду в складі преміксів, що допускається для даного приладу та атестованої методики досліджень.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на впровадження та відпрацювання методу капілярного електрофорезу при визначенні вмісту холін хлориду в кормових добавках і комбікормах.

QUALITY CONTROL PREMIX FOR THE CONTENTS OF CHOLINE CHLORIDE BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

H. P. Ryvak

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additive

S U M M A R Y

The article states the relevance of introducing an alternative method of capillary electrophoresis for the determination of choline chloride in premixes described conditions and circuit analysis, and presents the results of determining the content of choline chloride in standard and experimental samples premixes using the device "CAPEL-105/105M" which equipped with special software from the PC.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРЕМИКСОВ ЗА СОДЕРЖАНИЕМ ХОЛИН ХЛОРИДА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Г. П. Рывак

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье указано актуальность внедрения альтернативного метода капиллярного электрофореза для определения содержания холин хлорида в премиксах, описаны условия и схема проведения анализа, а также представлены результаты определения содержания холин хлорида в стандартном и опытных образцах премиксов с помощью прибора «Капель-105/105М», который оборудован специальным программным обеспечением на основе персонального компьютера.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Комаров Н. В., Каменцев Я. С.* Практическое руководство по использованию системы капиллярного электрофореза «Капель». Санкт-Петербург, 2008. — 208 с.
2. М 04-82-2014 «Кормовые добавки, корма, комбикорма, премиксы и сырье для их производства. Методика измерений массовой доли хлорида холина методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель», Санкт-Петербург, 2014. (Свидетельство № 04.04.106/(01.00035-2011)/2014 от 16.04.2014 аттестации методики метрологической службой).
3. Кормовые добавки в рационах животных: теория и практика / В. В. Дюкарев, А. Г. Ключковский // М.: Агропромиздат, 1985. — С. 279.
4. *Рось И. Ф.* Содержание холина в кормах, используемых в свиноводстве // Науч. основы питания с.-х. животных: Тез. докл. 2 Всесоюз. симпозиума. Юрмала, 1987. — С. 188–189.
5. *Околелова Т., Боднарук В., Сафонова Т.* Холин в комбикормах // Комбикорма. — 2002. — № 8. — С. 48–49.