

# Takarmánypremixek szaharintartalmának meghatározása nagynyomású folyadékkromatográfiával

NAGYNÉ GÁL EDIT  
Agrártudományi Egyetem (Keszthely)  
Állattenyésztési Kar, Kaposvár

Érkezett: 1987. március 25.

A takarmány-kiegészítők fontos csoportját alkotják az ízhatás javítása érdekében alkalmazott adalékok (1). Az utóbbi évtizedben ezek azért váltak fontossá, mert a nagyüzemi technológiával előállított takarmányok kevésbé ízletesek, mint a hagyományosak. Néhány komponens kifejezetten rontja (pl. halliszt) a takarmány ízét és szagát.

Éltető mértékben, de valamennyi állatfaj meg tudja különböztetni az ízeket. A sertések különösen kedvelik az édes ízt. A fiatal állatok esetében természetes édesítőanyagot nem alkalmazhatnak, mert a malacok 3–6 hetes korig nem képesek a répacukor megemésztésére. Viszont jó eredményeket értek el a szintetikus édesítőszer alkalmazásával. A leggyakrabban szaharint használnak erre a célra.

A természetes édesítőanyagokhoz viszonyítva a szaharin ízhatása nagyságrendekkel nagyobb, ezért igen alacsony koncentrációban alkalmazható. Az állati szervezetből maradéktalanul kiürül, a húsban nem halmozódik fel. A szaharin alkalmazása – élettani és ökonomiai megfontolások alapján – szűk koncentráció-tartományban tekinthető gazdaságosnak. Szükség van tehát olyan analitikai módszerre, amely gyors és megbízható információt nyújt a takarmányok szaharintartalmára vonatkozóan.

Humán diétás készítmények szintetikus édesítőszer-tartalmának vizsgálatára rétegekromatográfiai és folyadékkromatográfiai módszerek ismertek (2, 3). E készítményekben a tartósítószer, a koffein és egyéb komponensek zavarhatják a szintetikus édesítőszer meghatározását. Folyadékkromatográfiai technikával, megfelelő pH-jú foszfát pufferok alkalmazásával a zavaró hatások kiküszöbölhetők. (4, 5).

A takarmányokból történő szaharin-meghatározást ugyancsak nehezíti az, hogy bonyolult összetételű biológiai mátrixok mellett kell megoldani. Tapasztalataink szerint gyors, kevés előkészítést igénylő és jó reprodukálhatóságot biztosító módszerre jelen esetben is a nagynyomású folyadékkromatográfia ad ideális lehetőséget. Mivel a takarmányok édesítésére a szaharin vízben oldódó nátriumsóját alkalmazzák extrakciója forró desztillált vízzel végezhető. A vizes kivonatból a szaharin az esetlegesen zavaró komponensektől Partisil – ODS töltetű folyadékkromatográfiai oszlopon, metanol és perklórsav oldat elegyének segítségével elválasztható. Mivel a szaharin rendelkezik megfelelő elnyelési sávval az UV-tartományban, dektálása fotometriásan megoldható.

## Anyag és módszerek

### Felhasznált anyagok

- metanol
- 0,1 M perklórsav oldat
- szaharin-nátrium (Fluka készítmény)
- standard törzsoldat: 0,01 g szaharin-nátrium 100 cm<sup>3</sup> vizes oldatban

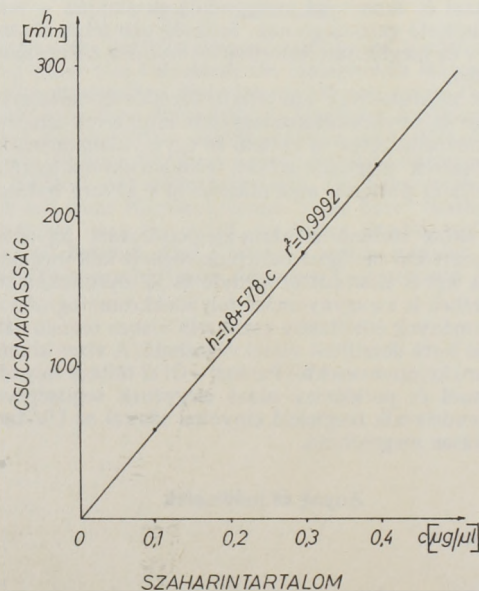
- standard munkaidetek: a törzsoldat 0,5 1,0 és 2,0 cm<sup>3</sup>-ét vízzel 10 cm<sup>3</sup> végtérfogatra hígítjuk

#### A folyadékkromatográfias elválasztás körülményei

- készülék: Pye Unicam gyártmányú nagynyomású folyadékkromatográf, mely LC – XP gradiens programozóból, 100/ A típusú eluens szállító rendszerből, LC – UV változtatható hullámhosszon érzékelő detektorból és PM 8251 típusú rekorderből épül fel
- elválasztó oszlop: 250 × 4,6 mm méretű Pye Unicam gyártmányú, Partisil – ODS töltetű kolona
- mozgó fázis: 400 cm<sup>3</sup> 0,1 M perklórsav oldat és 100 cm<sup>3</sup> metanol gázmentesített elegye
- áramlási sebesség: 1,0 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>
- detektálás: a 220 mm hullámhosszon mért fényelnyelés alapján (1,28 a.u.f.s.)

#### A mérőrendszer hitelesítése

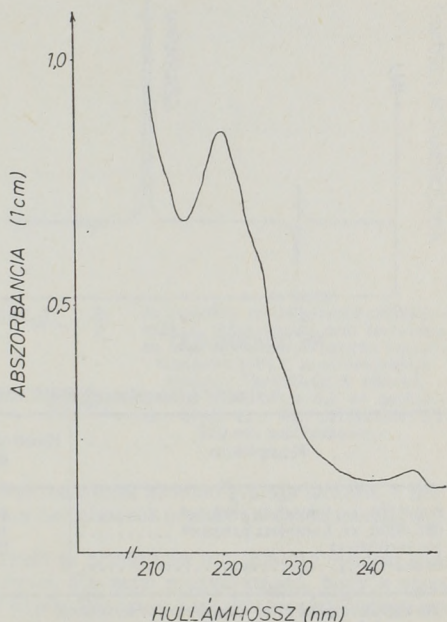
A hitelesítéshez a rendelkezésre álló 0,05 0,1 és 0,2 mg/cm<sup>3</sup> koncentrációjú standard oldatok 20 – 20 μl-ét juttatjuk az elválasztó oszlopra. Analitikai jelnek a kromatogramokon mért csúcsmagasságot tekinthetjük, mivel ez az adott koncentráció-tartományban lineáris összefüggésben van az oldat szaharintartalmával. A hitelesítő görbét az 1. ábra szemlélteti.



1. ábra  
A szaharin kalibrációs egyenese és egyenlete

### A szaharin extrakciója takarmánypremixből

50 g premixet dörzsmalomban 5 percig homogenizálunk. Az előkészített minta 5 g-ját mérjük be 100 cm<sup>3</sup>-s Erlenmeyer-lombikba és 50 cm<sup>3</sup> forró desztillált vízzel elkeverjük. Fél órás gépi rázatást követően leszűrjük az extraktumot 250 cm<sup>3</sup>-es mérőlombikba. Ennek feltöltése után a várható szaharintartalomtól függően a törzsolatból tízszeres vagy százszoros hígítást végzünk, majd a kapott oldat 20 µl-ét a kromatográfiás oszlopra injektáljuk.



2. ábra  
Szaharinoldat abszorpciós görbéje

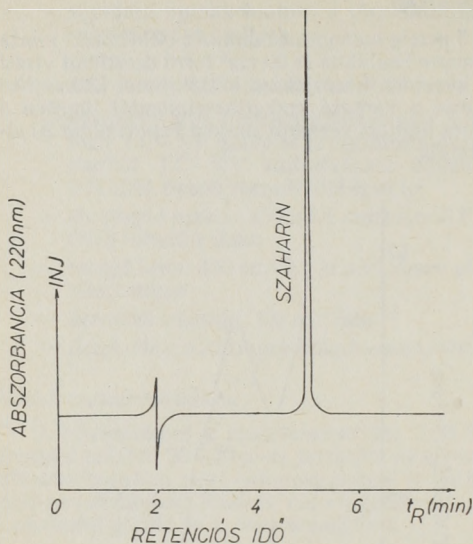
Az extraktum szaharintartalma az ismertetett mérési körülmények között  $t_R = 5,0$  perces retenciós idővel ( $k' = 1,63$ ) eluálódik. A fotometriás detektálás (2. ábra) 220 nm hullámhosszon történik. A kapott kromatogramból a csúcsmagasság ismeretében a hitelesítő görbe egyenletének segítségével az extraktum szaharintartalma számítható az alábbi összefüggés szerint:

$$\text{Szaharintartalom (g/kg)} = \frac{\text{hígítási faktor}}{\text{bemért mintatömeg}} \cdot C$$

ahol C az extraktum szaharin koncentrációja (mg/cm<sup>3</sup>), mely a csúcsmagasság ismeretében a hitelesítő görbe egyenletéből számítható.

### A módszer megbízhatóságának ellenőrzése

A módszer megbízhatóságának ellenőrzése két saját készítésű takarmánypremix vizsgálata alapján történt. A premixek összetételét az 1. táblázat tartalmazza. Mindkét premixből, valamint a szaharint nem tartalmazó kontroll premixekből is 5–5 meghatározást végeztünk el az ismertetett módszerrel.



3. ábra  
Standard szaharinoldat folyadékromatográfiás kromatogramja  
Oszlop: Partisil-ODS töltetű, eluens: metanol és 0,1 M perklórsav-oldat (1+4) arányú elegye, detektálás: 220 nm hullámhosszon.

A vizsgált takarmánypremixek 1000 g-jának összetétele

1. táblázat

Komponens	Kontroll minta (g)	Borjú premix (g)	Malac premix (g)
595/5315. sz. komplett premix* .....	400	800	—
895.8099. sz. komplett premix* .....	400	—	800
Kukoricaliszt .....	200	120	190
Szaharin .....	—	80	10

\* Az Agrokompex által forgalmazott termékek

### Eredmények és értékelésük

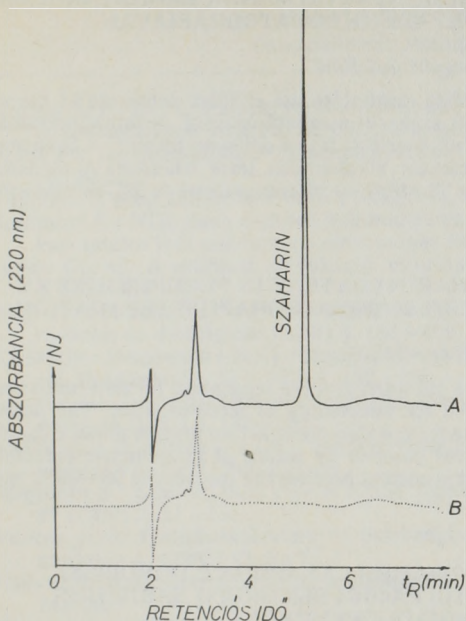
A módszer megbízhatóságának ellenőrzésére végzett vizsgálatok eredményeit a 2. táblázat tartalmazza.

Ezek alapján a módszer 98–99%-os visszanyeréssel és 3%-os variációs együtthatóval jellemezhető.

Szaharinmeghatározási eredmények

2. táblázat

		Borjúpremix	Malac premix
Elméleti érték .....	(g/kg)	80	10
Vizsgálatok száma .....	(db)	5	5
Mérési eredmények átlaga .....	(g/kg)	79,2	9,8
Visszanyerési százalék .....	(%)	99,0	98,0
Szórás .....	(g/kg)	2,6	0,3
Variációs együttható .....	(%)	3,3	3,0



4. ábra  
 A: Kísérleti malacpremix extraktumának, B: szaharint nem tartalmazó kísérleti kontroll premix extraktumának HPLC kromatogramja  
 Oszlop: Partisil-ODS töltetű, eluens: metanol és 0,1 M perklórsav oldat (1 : 4), detektálás UV 220 nm hullámhosszon

A 3. ábrán a standard szaharin vizes oldatának kromatogramja látható. A malacpremix és a kontroll (szaharint nem tartalmazó) premix extraktumának kromatogramját a 4. ábrán mutatjuk be.

A viszonylag nem szelektív extrakció és detektálási hullámhossz ellenére sem látható sok komponens a kromatogramon. Ez azzal magyarázható, hogy a vizes extrakcióval kioldódó és a fotometriás detektálás során a meghatározást esetlegesen zavaró komponensek a vizsgált koncentráció tartományban nem adnak jelet.

Összegzőképpen megállapítható, hogy a vizsgált mátrixban az alkalmazott extrakciós és elválasztási körülmények között a meghatározás zavaró hatások nélkül végezhető el.

#### IRODALOM

- (1) Bokori, J.: Általános takarmányozási és takarmányozás-élettani ismeretek. Állatorvostudományi Egyetem Budapest, 1983.
- (2) Órsi, F., Ember-Kárpáti, M., Lásztity, R., Ábrahám-Szabó, Á.: Élelmezési Ipar 37, 41 (1983).
- (3) Puttemans, M. L., Dryon, L., Massart, D. L.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67, 880 (1984).
- (4) Tyler, T. A.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67, 745 (1984).
- (5) Woodward, B. B., Heffelfinger, G. P., Ruggels, D. I.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 62, 1011 (1979).

# TAKARMÁNYPREMIXEK SZAHARINTARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA NAGYNYOMÁSÚ FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁVAL

*Nagyné Gál Edit*

A szerző folyadékkromatográfias meghatározási eljárást dolgozott ki takarmánypremixek édesítésére használt szaharin meghatározására. A folyadékkromatográfias elválasztás vizes kivonatból, fordított fázisú oszlopon történt. A kvantitatív meghatározást fotometriás detektor alkalmazása tette lehetővé. A módszer gyors és egyszerű. Megbízhatósága 98–99%-os visszanyeréssel és 3%-os variációs koefficienssel jellemezhető.

## DETERMINATION OF SACCHARIN CONTENT IN FEEDPREMIXES BY HIGH PERFORMANCE-LIQUID CHROMATOGRAPHIC SEPARATION

*Nagy-Gál, E.*

The author developed a liquid chromatographic separation for determination of saccharin content which is used for sweetening of feeds-premixes. The liquid chromatographic separation is done from watered extract on inverse phase column. The quantitative determination was possible by means of photometric detector. The method is quick and simple. It is correct because the recovery is 98–99% and the coefficient of variation is 3%.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ САХАРИНА С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ВЫСОКОГО ДАВЛЕНИЯ В ФУРАЖНЫХ ПРЕМИКСАХ

*Э. Гал Надьна*

Автор разработал метод жидкостной хроматографии для определения сахари́на, применяемого для подслащивания фуражных премиксов. Жидкостно-хроматографическое разделение проводилось из водной вытяжки на обратно-фазовой колонне. Возможность количественного определения обеспечивалась применением фотометрического детектора. Разработанный метод является простым и быстровыполнимым. Надежность метода характеризуется 98–99%-ной воспроизводимостью и 3%-ным вариационным коэффициентом.

## BESTIMMUNG DES SACCHARINGEHALTES VON FUTTERMITTELPREMIKEN MIT DER HOCHDRUCKFLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE

*Nagyné, Gál, E.*

Die Verfasserin hat für die Bestimmung des zur Süßung von Futtermittelpremixen eingesetzten Saccharins ein Bestimmungsverfahren mittels Flüssigkeitschromatographie ausgearbeitet. Die flüssigkeitschromatographische Trennung erfolgte aus dem wäßrigen Auszug an einer Säule umgekehrter Phase. Die quantitative Bestimmung war mit Hilfe eines photometrischen Detektors möglich. Das Verfahren ist schnell und einfach. Seine Zuverlässigkeit kann mit einer 98–99%-igen Wiederfindungsrate und 3%-igem Variationskoeffizienten charakterisiert werden.