

## **Aplikace CE v analýze krmiv**

Aplikace CE nacházejí uplatnění především v biochemii, farmacii, v analýze životního prostředí a částečně i v analýze potravin. Analýza krmiv ještě donedávna nebyla typickou aplikační oblastí CE, nicméně v poslední době lze i v této oblasti sledovat nárůst publikací. S použitím analyzátorů IONOSEP je možné stanovit řadu nutričně významných složek krmiv.

Krmivem se nazývají látky rostlinného, živočišného nebo minerálního původu, nebo jejich směsi, které v obvyklých dávkách nepůsobí škodlivě na zdraví hospodářských zvířat ani na kvalitu jejich produktů (maso, mléko, vejce apod.). Jsou to např. suroviny, kompletní a doplňkové krmné směsi, minerální nebo minerálně vitaminové směsi, premixy anorganických a organických látek nebo látek se specifickými biologickými účinky. Z analytického hlediska představuje krmivo komplexní a značně heterogenní matici, což výrazně komplikuje analytické stanovení látek v něm obsažených. Vzhledem ke skutečnosti, že běžné neionogenní složky potravin jako jsou sacharidy, škrob, vláknina a další neruší elektroforetickou analýzu, je tato metoda v řadě případů velmi vhodná pro stanovení ionogenní látek. Další výhodou je potřeba minimální úpravy vzorku před analýzou (ředění a filtrace u kapalných vzorků či extrakce u vzorků pevných), což snižuje pracnost analýz. Separace ve volném roztoku v kapiláře eliminuje v mnoha případech nežádoucí interakce analytu s nosičem jak tomu bývá u chromatografických technik a tím se dosahuje velmi dobré reprodukovatelnosti analýz.

**Pro přehlednost budou látky stanovené metodami kapilární elektroforesy rozděleny do třech hlavních skupin:**

- ✓ **přírodní látky v krmivech** (*alkalické kovy a kovy alkalických zemin, anorganické anionty, organické kyseliny, aminokyseliny, biogenní aminy, bílkoviny, antinutriční látky a toxiny*),
- ✓ **krmivářská aditiva** (*esenciální aminokyseliny, ve vodě rozpustné vitaminy, antioxidanty, acidifikátory, konzervační látky, růstové stimulanty*),
- ✓ **cizorodé látky** (*biocidy, těžké kovy, některé anorganické anionty*).

Kapilární elektroforesa byla taktéž využita pro hodnocení homogenity krmných směsí přes stanovení minoritních složek jako je přidávaný lysin, cholin, halofuginon, aj.

Seznam aplikací analyzátorů **IONOSEP** v analýze krmiv je uveden v následující tabulce.

### Použité zkratky

BALA = beta-alanin; BTP = 1,3-bis[tris(hydroxymethyl)methylamino]propan, bis-tris-propan; EACA = 6-aminokapronová kyselina; GLYGLY = glycyglycin; HEC = hydroxyethylcellulosa; HIS = histidin; HPMC = hydroxypropylmethylcellulosa; MES = morfolinethansulfonová kyselina, MHEC = methylhydroxyethylcellulos; TRIS = 1,1,1- Tris (hydroxymethyl)-aminomethan; PVP = polyvinylpyrrolidon; SPE = extrakce na tuhou fázi (solid phase extraction)

### Použitá literatura

- [1] Blatný, P., Kvasnička, F.: Czech J. Anim. Sci., 44 (1999) 277 – 288.
- [2] Blatný, P., Kvasnička, F., J. Chromatogr., 834 (1999) 419 – 431.
- [3] Kvasnička, F.: Electrophoresis, 21 (2000) 2780 – 2787.

**Použití analyzátoru IONOSEP v analýze krmiv**

Analyt	Elektroforetický mód/detekce	Elektrolytový systém	Vzorek	Úprava vzorku
NH <sub>4</sub> , K, Na, Ca, Mg	CITP/vodivostní	LE: 7.5 mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 7 mM 18-crown-6 + 0.05 % HPMC TE: 5 mM BTP + 10 mM kapronová kyselina	Siláže, doplňky krmiv, různé krmné směsi	Extrakce vodou nebo 0.1 M HCl, ředění, filtrace
Fe	CITP-CZE/UV při 254 nm	LE: 10 mM HCl + 14 mM BALA + 0.05% HPMC TE: 10 mM octová kyselina BGE: 100 mM octová kyselina + 20 mM BALA + 0.05% HPMC	Pitná voda, různé krmné směsi	Přídavek EDTA
Těžké kovy (Cd, Cu, Pb, Zn) + Al	CITP/ vodivostní	LE: 30 mM NH <sub>4</sub> Ac + 10 mM glykolová kyselina TE: 5 mM octová kyselina	Pitná voda, různé krmné směsi	Extrakce na tuhou fázi (Spheron OXIN 1000)
Chlorid, bromid, jodid, síran	CITP/ vodivostní	LE: 6 mM Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> TE: 10 mM vinná kyselina	Pitná voda	žádná
Dusitan, dusičnan, síran, siřičitan, fosforečnan	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 10 mM BALA + 3 mM BTP + 0.05% HPMC TE: 10 mM citronová kyselina	Pitná voda, různé krmné směsi	Ředění, extrakce vodou nebo 0.1 M HCl
Bromičnan, chlorečnan, chloritan	CITP-CZE/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 20 mM BALA + 0.05% HPMC TE: 10 mM jantarová kyselina BGE: 10 mM jantarová kyselina + 5 mM BALA + 0.05% HPMC	Pitná voda	žádná
Fosforečnan (některé organické kyseliny)	CITP/ vodivostní	LE: 5 mM HCl + GLYGLY, pH 2.8 TE: 10 mM kapronová kyselina	různé krmné směsi	Extrakce horkou vodou, filtrace
Fluorid	CITP/ vodivostní	LE: 2 mM HCl + 5 mM EACA + 0.05% HPMC TE: 2 mM vinná kyselina	krmné směsi, různé krmné směsi	Mikrodifuze z 25% chloristé a zachycení do 0.5 M NaOH
Jodid	CITP/UV při 254 nm	LE: 10 mM HCl + HIS + 0.2% HEC + 6% PVP, pH 6 TE: 10 mM MES + HIS, pH 6	Pitná voda	Přídavek síranu a fluoridu (diskrétní spacery)
Organické kyseliny (mléčnan, octan, jantar, propionan, máselnan)	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 22 mM EACA + 0.05% HPMC TE: 10 mM kapronová kyselina	Siláže, různé krmné směsi	Extrakce vodou, ředění, filtrace

Analyt	Elektroforetický mód/detekce	Elektrolytový systém	Vzorek	Úprava vzorku
Organické kyseliny (citronová, benzoová, mravenčí, fumarová, mléčná, jablečná, fosforečná, vinná)	2D-CITP/ vodivostní a UV při 254 nm	LE1: 10 mM HCl + 5.6 mM BTP + 0.05% MHEC LE2 : 20 mM HCl + 30 mM glycin + 20 mM beta-cyklodextrin + 0.05% MHEC TE :5 mM kapronová kyselina	krmné směsi a doplňky	Extrakce vodou, ředění, filtrace
Organické kyseliny (mléčná, jantarová, beta-hydroxymáselná)	2D-CITP/ vodivostní	LE1: 10 mM HCl + 20 mM BALA + 0.05% MHEC LE2 : 5 mM HCl + 20 mM BALA + 0.05% MHEC TE :5 mM kapronová kyselina	vejce	Extrakce vodou, ředění, filtrace nebo odstředění
Fytová kyselina a fosforečnan	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 5.6 mM BTP + 0.05% HPMC, pH 6.1 TE: 10 mM MES	Obiloviny, luštěniny, různé krmné směsi	extrakce 3.5% HCl, filtrace, ředění
Methionin (volný)	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 20 mM arginin + 0.1% PVP TE: 10 mM valin+ Ba(OH) <sub>2</sub> do pH 10	krmné směsi a doplňky	Extrakce vodou, ředění, filtrace
Lysin, arginin, ornithin (volný nebo vázaný)	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM KOH + 20 mM valin + 0.05% HPMC TE: 10 mM Tris + HCl do pH 8.3	krmné směsi a doplňky	Extrakce nebo alkalická hydrolyza hydroxidem barnatým, neutralizace, ředění, filtrace
Histamin	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM KOH + 20 mM valin, pH 9.9 TE: 20 mM Tris + HCl, pH 8.3	Rybí moučka, různé krmné směsi	extrakce 0.01 M HCl
Glukosinoláty (sinalbin, sinigrin)	CITP/ vodivostní a UV při 254 nm	LE: 10 mM HCl + 20 mM GLYGLY + 0.05% HPMC TE: 10 mM octová kyselina	Hořčičné semena, různé krmné směsi	Extrakce horkou vodou
Glykoalkaloidy (chaconin, solanin)	CITP/ vodivostní	LE: 2 mM HCl v methanol TE: 5 mM Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> v methanol	brambory, různé krmné směsi	Extrakce methanolem, SPE zakoncentrování
Biofaktory (cholin, lysin, kurasan, vitamin B1 a B6)	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM NH <sub>4</sub> OH + 20 mM octová kyselina + 0.05% HPMC TE: 10 mM octová kyselina	Doplňky krmiv	Extrakce vodou, ředění, filtrace