



УКРАЇНА

(19) UA (11) 84894 (13) C2

(51) МПК (2006)

A23K 1/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД(54) ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ
СОРБЕНТІВ ДЛЯ МІКОТОКСИНІВ ЗА УМОВ, НАБЛИЖЕНИХ ДО УМОВ ТРАВНОГО ТРАКТУ

1

2

(21) а200607271

(22) 30.06.2006

(24) 10.12.2008

(46) 10.12.2008, Бюл.№ 23, 2008 р.

(72) ТРУФАНОВ ОЛЕГ ВІКТОРОВИЧ, UA, КОТИК
АНАТОЛІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, UA(73) ІНСТИТУТ ПТАХІВНИЦТВА УКРАЇНСЬКОЇ
АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК, UA

(56) SU 660653, 05.05.79.

UA 4794 U, 15.02.05.

Вяхирев Д.А., Шушунова А.Ф. Руководство по га-
зовой хроматографии. М.: Высшая школа, 1975.

UA 80629 C2, 15.06.06.

Иванов А.В. и соавт. Нисходящие индуцирован-
ные градиенты pH в жидкостной хроматографии
со свободной неподвижной фазой. Вестн.Моск.ун-
та, Сер.2. Химия, Т.45, № 4, С.240-245.Зеленкова Н.Ф. и соавт. Анализ вторичных мета-
болитов микроскопических грибов рода хроматог-рафическими методами. Прикладная биохимия и
микробиология, 2003, Т.39, № 1, С.52-62.

UA 80629 C2, 15.06.06.

(57) 1. Застосування методу тонкошарової хрома-
тографії для визначення ефективності сорбентів
для мікотоксинів за умов, наближених до умов
травного тракту, що включає проведення рідин-
ної хроматографії мікотоксинів у тонкому шарі
досліджуваного сорбенту, проявлення хромото-
грами, замір показників хроматографічної
рухливості мікотоксинів та обчислення фактора
ємності сорбенту, коефіцієнту розподілення та
концентрації мікотоксинів у рідкій фазі після
досягнення сорбційної рівноваги.2. Спосіб за п. 1, в якому як рідку фазу використо-
вують розчини зі значеннями рівня кислотності
від 2,0 до 9,0, а хроматографію проводять за те-
мператури 35-42°С.

Винахід відноситься до методів вивчення фі-
зико-хімічних властивостей сорбентів, що викорис-
товуються як засоби профілактики отруєнь токсич-
ними речовинами.

Не зважаючи на значні досягнення у створенні
засобів попередження контамінації зерна та про-
дуктів його переробки мікотоксинами - токсичними
метаболітами мікроскопічних грибів - проблема
мікотоксикозів сільськогосподарських тварин за-
лишається актуальною і потребує пошуків доступ-
них шляхів її вирішення. В останні роки у плані
профілактики мікотоксикозів особлива увага при-
діляється пошуку, розробці та впровадженню у
практику тваринництва сорбентів - матеріалів,
яким притаманна здатність зв'язувати (або погли-
нати), утримувати та виводити з кишкового тракту
мікотоксини. Однією з найважливіших вимог до
сорбентів є висока адсорбційна активність по від-
ношенню до мікотоксинів та низька - до корисних
сполук (вітамінів, амінокислот тощо).

Головним показником, що відображує придат-
ність сорбенту до використання, є його здатність
поліпшувати стан тварин при токсикозі

[Avantaggiato G., 2005]. Але випробуванням на
тваринах повинні передувати випробування in
vitro, метою яких є визначення адсорбційної актив-
ності сорбенту відносно сорбатів (речовин, що
сорбуються).

Єдиним відомим способом оцінювання сорбе-
нтів in vitro є вимірювання відсотку адсорбції
[Spotti M., 2005; Dakovic A., 2005; Desheng Q.,
2005; Scheideler S. E., 1993; Dvorak M., 1989]. Для
знаходження відсотку адсорбції до розчину з пев-
ною концентрацією сорбату додають сорбент та
через деякий час визначають залишкову концент-
рацію сорбату. Цей спосіб має два недоліки. По-
перше, відсоток адсорбції залежить від концент-
рації сорбату, що можна надати у вигляді ізотерми
адсорбції Фрейндліха, для побудови якої необхід-
но провести ряд досліджень з різними співвідно-
шеннями сорбенту та сорбату. По-друге, для ви-
значення відсотку сорбції для декількох сполук
необхідно використовувати методи кількісного
визначення цих сполук у розчині після завершення
процесу адсорбції. Для багатьох речовин, які мо-
жуть бути об'єктами адсорбції, методи кількісного

(13) C2

(11) 84894

(19) UA

визначення є складними та мають високу собівартість.

Тому актуальним питанням є пошук нових шляхів для оцінювання ефективності сорбентів.

Мета винаходу полягає у створенні інформативного та простого у використанні способу для оцінювання спорідненості досліджуваного сорбенту до широкого спектру сорбатів, серед яких можуть бути як шкідливі (токсини), так і корисні сполуки (поживні речовини, лікарські засоби тощо), а також для порівняння здатності різних сорбентів до адсорбції певної речовини.

Поставлена мета досягається проведенням рідинної хроматографії досліджуваних сполук у тонкому шарі досліджуваного сорбенту, замірювання хроматографічної рухливості цих сполук та вираховування фактору ємності сорбенту k' і коефіцієнту розподілення K . На відміну від відсотку адсорбції, фактор ємності та коефіцієнт розподілення не залежать від концентрацій сорбату та сорбенту. Знаходження цих показників не потребує застосування методів кількісного визначення досліджуваних сполук, а здійснюється шляхом хроматографії. Спосіб ґрунтується лише на якісному проявленні хроматографічних пластинок. У якості рідкої фази використовують водний розчин, близький за складом та властивостями до середовища, у якому має відбуватися адсорбція.

Хід роботи

1. Приготування тонкого шару сорбенту. На скляну пластинку розміром 10x15 см наносять певну кількість сухого досліджуваного сорбенту та рівномірно розподіляють по поверхні за допомогою шпателя або скляної палички. Товщина шару може бути від 0,25 до 1 мм в залежності від діаметру частинок сорбенту. По краях скляної пластинки лишають вільні від сорбенту смужки шириною 5-7 мм.

2. Хроматографія досліджуваних сорбатів. Розчини стандартів досліджуваних сорбатів наносять на стартову лінію на відстані 15 мм від нижнього краю. Об'єм та концентрацію досліджуваного сорбату для нанесення на пластинку визначають експериментально, керуючись літературними даними щодо межі виявлення даної сполуки. Пластинку розміщують у камері для хроматографії під кутом 10-15° до поверхні рідкої фази таким чином, щоб нижній край пластинки був занурений у неї, але контакту зразків безпосередньо з рідкою фазою було уникнуто. Для моделювання умов, у яких відбуватиметься адсорбція у травному тракті, у якості рідкої фази доцільно використовувати буферні розчини з певним рівнем кислотності (від 2,0 до 9,0), та проводити хроматографію за температури 35-42°C.

3. Якісне виявлення досліджуваних сполук. Після досягнення фронтом рідкої фази лінії фінішу (5-10 мм від верхнього краю пластинки), пластинку з сорбентом висушують та проявляють.

4. Замірювання хроматографічної рухливості та обчислення результатів. Замірюють відстань від лінії старту до лінії фінішу (L) та відстань від точки нанесення зразку до центру зони (l). Хрома-

тографічну рухливість (R_f) розраховують за формулою:

$$R_f = \frac{l}{L}.$$

Фактор ємності k та коефіцієнт розподілення K розраховують за формулами [Snyder L. R., 1968]:

$$k' = \frac{1-R_f}{R_f} \text{ та } K = \frac{k'}{\chi/\varepsilon}, \text{ де}$$

χ - частка об'єму сорбенту, яка припадає власне на сорбент;

ε - частка об'єму сорбенту, яка припадає на порожнечу.

Значення χ та ε знаходять експериментальним шляхом вимірювання об'єму рідкої фази, що поглинається кількістю сорбенту, який займає вільний об'єм.

Знаючи коефіцієнт розподілення K та початкову концентрацію сорбату у рідкій фазі C_0 , знаходять концентрацію сорбату у рідкій фазі C після досягнення процесом сорбції стану рівноваги за формулою [Сакодинский Е.И., Бражников В.В., 1993]:

$$C = \frac{C_0}{1+K}$$

Таким чином, застосування техніки тонкошарової хроматографії для оцінювання сорбентів дає змогу змодельовати процес сорбції досліджуваної речовини у кишковому тракті для широкого діапазону значень її початкової концентрації, не застосовуючи методів кількісного визначення.

Література:

1. Сакодинский Е.И., Бражников В.В., Волков С.А., Зельвенский В.Ю., Ганкина Э.С., Шатц В.Д. Аналитическая хроматография. - М.: Химия, 1993. - 464 с.
2. Avantiaggiato G., Solfrizzo M., Visconti A. Recent advances on the use of adsorbent materials for detoxification of Fusarium mycotoxins. Food Addit Contam. 2005 Apr; 22 (4):379-88.
3. Dakovic A., Tomasevic-Canovic M., Dondur V., Rottinghaus G. E., Medakovic V., Zaric S. Adsorption of mycotoxins by organozeolites. Colloids Surf B Biointerfaces. 2005 Nov 25;46(1):20-5. Epub 2005 Sep 28.
4. Desheng Q., Fan L., Yanhu Y., Niya Z. Adsorption of aflatoxin B1 on montmorillonite. Poult Sci. 2005 Jun; 84(6):959-61.
5. Dvorak M. Ability of bentonite and natural zeolite to adsorb aflatoxin from liquid media. Vet Med (Praha). 1989 May;34(5):307-16.
6. Scheideler SE. Effects of various types of aluminosilicates and aflatoxin B 1 on aflatoxin toxicity, chick performance, and mineral status. Poult Sci. 1993 Feb;72(2):282-8.
7. Snyder L.R. Principles of adsorption chromatography. Dekker: New York. 1968.
8. Spotti M., Fracchiolla M.L., Arioli F., Caloni F., Pompa G. Aflatoxin B1 binding to sorbents in bovine ruminal fluid. Vet Res Commun. 2005 Aug; 29 (6):507-15.

