



## Определение содержания хелатированных микроэлементов в кормовых добавках методом инфракрасной Фурье-спектроскопии

*Никифорова З.Н., Хрущев А.Ю., Прийма А.Д., Диас Хименес К.А., Орлова Ю.С., Сарханова А.А., Соколова Д.В., Грицюк В.А., Киш Л.К.*

В качестве альтернативы неорганическим источникам микроэлементов в современном животноводстве активно используются микроэлементы, связанные с определенными органическими молекулами – хелатные формы. Хелатирование – это процесс, в ходе которого минеральные вещества преобразовываются до легко усвояемых организмом форм. Для гарантии продовольственной безопасности факт образования хелатного комплекса с микроэлементом необходимо подтверждать качественно и количественно [1]. Целью данной работы была оценка возможности использования метода ИК-спектроскопии в среднем диапазоне для качественного и количественного определения хелатных комплексов в кормовых добавках.

**Материалы и методы.** Гептагидрат сульфата цинка, х.ч.; пентагидрат сульфата меди (II) х.ч.; гидроксид натрия, х.ч.; глицин, 99,0%; спирт этиловый; многоэлементный стандартный раствор высокой степени чистоты. Регистрацию ИК-спектров проводили на ИК-Фурье-спектрометре Nicolet iS50 с приставкой НПВО на кристалле алмаза.

**Таблица 1.** Сравнение различных методов построения калибровочной модели для глицината цинка.

Тип калибровочной модели	RMSEC, %	RMSEP, %	Коэффициент корреляции
По закону Бэра	7,82	10,5	0,9771
CLS	11,2	9,93	0,9647
SMLR	5,49	11,9	0,9886
PCR (5 PC)	5,74	9,88	0,9875
PLS (6 PC)	2,70	4,09	0,9973

**Таблица 2.** Сравнение различных методов построения калибровочной модели для глицината меди.

Тип калибровочной модели	RMSEC, %	RMSEP, %	Коэффициент корреляции
По закону Бэра	13,5	15,7	0,9495
CLS	15,0	14,1	0,9190
SMLR	5,99	8,36	0,9851
PCR (8 PC)	4,17	4,20	0,9928
PLS (8 PC)	3,22	7,73	0,9957

**Заключение.** Оптимизированы условия приготовления опытных образцов кормовых добавок хелатных комплексов глицина с цинком, медью с последующим контролем качества арбитражными методами.

Разработана методика качественного и количественного содержания хелатированных микроэлементов в кормовых добавках с использованием инфракрасной Фурье-спектроскопии (ИКФС) с выделением наиболее информативных полос спектра.

#### Список использованных источников:

- Hill G. M., Shannon M. C., Biological Trace Element Research, 2019, 188:148–15;
- Nastiti S. A., Harmita C. J. Int. J. App. Pharm., 10, Special Issue 1, 2018, 388-391

**Результаты и обсуждение.** Были отработаны и оптимизированы методики синтеза хелатов, учитывающая все необходимые условия (температура реакции 60 °С, время 20-25 минут, слабощелочная среда). В мягких условиях реакции получали комплексные соединения высокой степени чистоты с выходом целевых продуктов 91,7-93,9 %.

Хелатные соединения исследовали методом ИКФС в диапазоне волновых чисел 4000-500 см<sup>-1</sup> с последующим контролем качества базовыми методами. Медь и цинк обладают достаточными физико-химическими свойствами для образования ковалентно-координационных связей с аминокислотами, нейтральных по заряду.

Глицин и его соответствующие хелатные комплексы микроэлементов имеют различные друг от друга ИК-спектры, что было показано в данном исследовании. Было отмечено смещение полосы валентного асимметричного колебания аминогруппы свободного глицина от положения 3166,22 см<sup>-1</sup>, до 3308,14 см<sup>-1</sup> для глицината цинка и 3253,26 см<sup>-1</sup> и 3298,85 см<sup>-1</sup> для глицината меди.

Спектры отражают различия между связями, относящихся к стрейчинговой вибрации  $\nu$  (N-H) аминной группы и свидетельствуют о возможной координации лиганда через атом азота. Сдвиг полос на более высокие частоты в хелатных комплексах свидетельствует о том, что координация ионов металлов осуществляется в основном через атом азота [2].

Используя хемометрические подходы к анализу данных были построены калибровочные модели на основе закона Бугера-Ламберта-Бэра, а также методов CLS, SMLR, PCR, PLS. В качестве калибровочных диапазонов выбрали участки спектра в которых были выявлены наибольшие изменения в результате хелатирования: область 1230-1700 см<sup>-1</sup> - асимметричные колебания карбоксильной группы и 3040-3600 см<sup>-1</sup> – валентные колебания аминогруппы глицина. Для каждой модели использовали набор обучающих данных из ИК-спектров 6 калибровочных смесей (по 8 спектров для каждого образца). Проверки моделей проводили с помощью валидационного образца (60% хелата и 40% целлюлозы). Выбор целлюлозы в качестве матрицы обусловлен тем, что она наиболее часто используется производителями кормовых добавок в качестве вспомогательного вещества.

В таблицах 1 и 2 приведено сравнение типов калибровки по величинам RMSEC (Root Mean Square Error of Calibration - среднеквадратический остаток калибровки) и RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction - среднеквадратичный остаток прогноза), а также по коэффициентам корреляции. Из представленных данных видно, что модели, полученные по закону Бугера-Ламберта-Бэра, методу наименьших квадратов (CLS) и методу обратных наименьших квадратов (SMLR) показали существенно более высокие значения величин ошибок RMSEP и RMSEC как для обоих глицинов, по сравнению с проекционными методами - PCR и PLS, которые также показали наилучшую корреляцию (R<sup>2</sup>).

Данные результаты можно объяснить эффектом спектрального взаимодействия – наложением характеристических полос аналита и матрицы. В этих условиях происходит искажение спектрального профиля аналита и нелинейное изменение интенсивности характеристических полос, что может быть учтено только проекционными методами на этапе декомпозиции данных. Следует отметить, что в случае глицината цинка наилучшие результаты были достигнуты с использованием калибровки по методу PLS, однако для глицината меди оптимальным методом является PCR, ввиду минимальных различий в величинах RMSEC и RMSEP, что является признаком сбалансированной калибровочной модели.