СОЮЗ СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1130800 A

3 (51) G 01 N 31/08

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 3584398/30-15
(22) 19.04.83
(46) 23.12.84. Бюл. № 47
(72) А.Д. Пелевин
(71) Всесоюзный научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности
(53) 636.085./087(088.8)
(56) 1. Букин В.Н. Витаминные ресурсы и их использование. Сб. 3. М., изд-во АН СССР, 1965.

2. Флоренская Н.К. Технологический контроль качества сырья и комбикормов. М., "Колос", 1968.

(54)(57) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИАМИНА В КОРМАХ, включающий экстракцию тиамина из пробы корма, перевод его в тиохром окислительной смесью и флуорометрирование, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что, с целью повышения точности и сокращения времени определения, экстракцию тиамина из пробы корма осуществляют раствором хлорида калия при соотношении от 1:10 до 1:15, а флуорометрирование проводят с использованием хинина гидрохлорида или хинина сульфата .

(19) SU (11) 1130800 A

Изобретение относится к технике количественного определения содержания тиамина (витамина B_1), широко применяемой при контроле качества продукции в комбикормовой промышленности.

Тиамин является одним из биологически активных веществ премиксов, используемых для обогащения комбикормов и белкововитаминных добавок. В премиксы его вводят в количествах 200-300 г/т. В организме животных он входит в состав ферментов и играет роль в водном, углеводном, белковом и фосфорном обмене, имеет большое значение для роста, развития и продуктивности. Поэтому важным моментом при контроле качества продукции является количественное определение содержания тиамина, для чего необходим точный, экспрессный и простой способ его анализа.

Известны способы определения содержания тиамина, основанные на выделении (экстракции) и гидролизе фосфатных его соединений с помощью энзиматической или химической (кислотной) обработки, превращения в щелочной среде при добавлении окислителя (калия железосинеродистого) в тиохром и измерении интенсивности флуоресценции [1].

Наиболее близким к предлагаемому является способ определения тиамина в комбикормах, включающий экстракцию тиамина раствором серной кислоты при кипячении на водяной бане, затем тиамин переводят в тиохром окислительной смесью и флуорометрируют [2].

Недостатками известных способов является их продолжительность (от 3 ч и более), невысокая точность анализа, обусловленная разрушением тиамина в процессе гидролиза и неустойчивостью рабочего стандартного раствора (годен к применению в течение 2 ч).

Цель изобретения - повышение точности и сокращения времени определения тиамина.

Поставленная цель достигается тем, что согласно способу определения тиамина в кормах, включающему экстракцию тиамина из пробы корма, перевод его в тиохром окислительной смесью и флуорометрирование, экстракцию тиамина из пробы корма осуществляют раствором хлорида калия при соотношении от 1:10 до 1:15, а флуорометрирование проводят с использованием хинина гидрохлорида или хинина сульфата.

В результате экспериментальных исследований установлено, что введенный тиамин в течение 10 мин экстрагируется из навески пробы премикса 5%-ным раствором хлорида калия в соотношении от 1:10 до 1:15. Растворы солей хинина (хинина гидрохлорида хинина сульфата) флуоресцируют в области 320-390 нм, характерной для поглощения тиамина, переведенного в тиохром; причем интенсивность флуоресценции 1 мкг/мл соли хинина соответствует 1 мкг/мл тиамина, переведенного в тиохром. В связи с этим количественное содержание тиамина определяется по интенсивности флуоресценции стандартного раствора соли хинина с концентрацией 1 мкг/мл, не требующего обработки окислительной смесью. Растворы солей хинина являются неограниченно стойкими, особенно при хранении в посуде из темного стекла.

Способ осуществляют следующим образом.

Пример. Берут навеску премикса массой 5 г, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, приливают 50 мл 5%-ного раствора хлорида калия и встряхивают на качалке 10 мин. Затем доводят объем в колбе до метки раствором хлорида калия, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

1-2 мл фильтрата переносят в мерную колбу на 50 мл и доводят до метки раствором хлорида калия. Берут 40 мл разбавленного фильтрата и 40 мл изобутилового спирта в делительную воронку и тщательно перемешивают в течение 2 мин. После расслоения нижний водный слой сливают в цилиндр, доводят до первоначального объема (до 40 мл) раствором хлорида калия, перемешивают и используют для анализа. В две делительные воронки вносят по 8 мл испытуемого раствора, приливают 6 мл окислительной смеси, перемешивают, добавляют 20 мл изобутилового спирта и встряхивают 2 мин. После расслоения нижний слой (водный) отбрасывают, а верхний (спирто-

вый) фильтруют через бумажный фильтр с безводным сульфатом натрия во флуорометрическую кювету и флуорометрируют, настроив предварительно прибор по стандартному раствору хинина, 20 мл которого помещают в кювету.

Для гашения флуоресценции к испытуемым растворам добавляют по 1-2 капли (0,05 мл) концентрированной соляной кислоты, перемешивают содержимое и измеряют остаточную флуоресценцию.

Стандартный раствор хинина готовят следующим образом.

Навеску кристаллического хинина гидрохлорида массой 10 мг растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл в 0,1 н. растворе серной кислоты. Затем берут 1 мл этого раствора и разводят 0,1 н. раствором серной кислоты в мерной колбе вместимостью 100 мл (концентрация хинина гидрохлорида 1 мкг/мл). Раствор стойкий.

Содержание тиамина (X) в граммах на тонну премикса рассчитывают по формуле

$$X=\frac{A-A_1\cdot K\cdot V\cdot V_2\cdot 10^6}{72\cdot V_1\cdot V_3\cdot m\cdot 10^6},$$

где A – показания флуорометра для испытуемого раствора до гашения;

A_1 – показания флуорометра для испытуемого раствора после гашения;

V – объем раствора, в котором находится навеска, мл;

V_1 – объем раствора, взятого на окисление, мл;

V_2 – объем разбавленного фильтрата, мл;

V_3 – объем фильтрата, взятый на анализ, мл,

K – количество хинина в 1 мл стандартного раствора, мкг,

m – масса навески премикса, г;

72 – постоянная величина флуоресценции стандартного раствора солей хинина;

10^6 – величины для пересчета содержания тиамина в г/т.

Пример 2. Берут навеску премикса массой 5 г, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, приливают 75 мл 5%-ного раствора хлорида калия и далее проводят анализ по п.1 примера осуществления способа.

Стандартный раствор хинина готовят следующим образом.

Навеску кристаллического хинина сульфата массой 10 мг растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл в 0,1 н. растворе серной кислоты. Затем берут 1 мл этого раствора и разводят 0,1 н.раствором серной кислоты в мерной колбе вместимостью 100 мл (концентрация хинина сульфата 1 мкг/ми). Раствор стойкий.

Полученные результаты испытания предлагаемого и известного способов приведены в таблице (введено тиамина в премиксы 200 г/т).

Анализ таблицы показывает, что содержание тиамина в премиксах, определяемое предлагаемым способом при соотношении массы навески пробы и экстрагента от 1:10 до 1:15, составляет $199,7^{+}-2,3$ - $201,1^{+}-2,8$ г/т, а при соотношении 1:8 - $180,0^{\pm}5,8$ г/т; при определении известным способом- $186,5^{\pm}4,8$ г/т с отклонением в меньшую сторону до 7,0 - 29,0 г/т по отношению к введенному количеству.

Использование предлагаемого способа определения тиамина в кормах позволяет повысить точность и сократить длительность анализа. Годовой экономический эффект по отрасли от внедрения способа составит 44640 руб.

№ пп	Определено содержание тиамина, г/т, по способу			
	предлагаемому	при соотношении массы навески премикса и экстрагента		Известному
	1:8	1:10	1:15	
1	198,1	208,0	202,0	186,0
2	197,9	206,0	205,0	193,0
3	208,0	201,0	205,0	171,0
4	187,3	201,0	196,0	193,0
5	197,7	200,0	205,0	185,0
6	160,0	202,0	198,0	193,0
7	169,0	201,0	198,0	187,0
8	184,0	201,0	198,0	183,0
9	208,0	200,0	192,0	184,0
10	192,0	191,0	198,0	190,0
$M \pm m$	$180,0 \pm 5,8$	$201,1 \pm 2,8$	$199,7 \pm 2,3$	$186,5 \pm 4,8$

Составитель О. Воробьев
Редактор Е. Лушникова Техред М. Гергель Корректор И. Эрдейи

Заказ 9603/32 Тираж 822 Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д.4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4