



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42485 (13) U  
(51) МПК (2009)  
G01N 33/52

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ КОЛОРИМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКІВ КАРБОКСИНУ (ВІТАВАКСУ) (5,6-ДИГІДРО-2-МЕТИЛ-1,4-ОКСАТИЇН-3-КАРБОКСИЛАМІДУ) У КОРМАХ**

1

2

(21) u200900368

(22) 19.01.2009

(24) 10.07.2009

(46) 10.07.2009, Бюл.№ 13, 2009 р.

(72) ЖУКОВА ІРИНА ОЛЕКСІЙОВНА, СТЕГНІЙ БОРИС ТИМОФІЙОВИЧ, МАЛІНІН ОЛЕГ ОЛЕКСІЙОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ"

(57) Спосіб колориметричного визначення залишків карбоксину (вітаваксу) (5,6-дигідро-2-метил-1,4-оксатиїн-3-карбоксиніламід) у кормах, що включає екстракцію сполук, реекстракцію органічними розчинниками, який **відрізняється** тим, що проводять виділення аніліну у розчині NaOH, додають реактив Ерліха і колориметрують при довжині хвилі 440-490 нм.

Корисна модель відноситься до токсикології, а саме до визначення залишків карбоксину у сільськогосподарських культурах колориметричним способом за вивільненням аніліном (метаболіт карбоксину).

Існує спосіб визначення карбоксину методом тонкошарової хроматографії [Падалкін І. Я. Визначення вітаваксу у кормах і продуктах тваринництва /І.Я. Падалкін, В.С. Бузлама, ВНДІНХТ, 1980], який заснований на взаємодії 2,3-дигідро-5-карбоксианілід-6-метил-1,4-оксатиїну (діюча речовина вітаваксу) з фосфорно-молібденовим натрієм, у результаті чого утворюється сполука, яка дає синє забарвлення. Чутливість визначення - 2мг/кг. Недоліком цього способу є його громіздкість та довго-тривалість, а також невелика чутливість.

Найбільш близьким до пропонованого способу є спосіб визначення карбоксину у зернових культурах за допомогою тонкошарової хроматографії [Кисельова Н.І. Хроматографічне визначення вітаваксу у зернових культурах/. - Київ, 1984], який базується на екстракції сполук із зерна органічними розчинниками, окисленні вітаваксу марганцево-кислим калієм до сульфоксиду, очищенні екстракту шляхом виморожування восків, переекстракції сполук у органічний розчинник і наступним визначенням їх у тонкому шарі адсорбенту. Оптимальні умови екстракції пестициду із водно-ацетонового середовища такі: співвідношення вода-ацетон 1:1, екстрагент - хлороформ. Після очистки екстракт сульфоксиду хроматографують у тонкому шарі адсорбенту (силікагель, «Сілуфол»), застосовуючи

у якості рухомої фази суміш хлороформу з діетиловим ефіром 5:2.

Виявлення зон локалізації сульфоксиду вітаваксу у тонкому шарі адсорбенту проводять шляхом УФ-розкладання сульфоксиду до аніліну; діазотування нітритом натрію у солянокислом середовищі і азосполучення отриманих солей фенілдіазонія з N-(1-нафтилетилендіаміном) або з  $\alpha$ -нафтиламином. Нижній кордон виявлення сульфоксиду вітаваксу за допомогою вказаних реакцій коливається від 0,5 до 1мкг. Недоліком цього способу є його громіздкість.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб колориметричного визначення залишків карбоксину (вітаваксу) (5,6-дигідро-2-метил-1,4 оксатиїн-3-карбоксиніламід) у кормах, що включає екстракцію сполук, реекстракцію органічними розчинниками, шляхом виділення аніліну у розчині NaOH, та додавання реактиву Ерліха і колориметрування при довжині хвилі 440-490нм (нанометрів), щоб забезпечити ефективність способу.

Спосіб, що пропонується, передбачає виділення аніліну у розчині NaOH, дистиляції, екстракції гексаном і доведенні рН до 6,5 за допомогою  $H_3PO_4$ , реекстракції бензолом і виділенні аніліну із бензолу за допомогою 20% оцтової кислоти, додаванні реактиву Ерліха і колориметруванні у 50мм силікагелі при довжині хвилі 440-490нм. Наявність аніліну супроводжується забарвленням силікагелю у жовтий колір.

Спосіб виконується таким чином.

Беруть наважку зерна або зелених частин рослини в кількості 100г, вмішують у колбу з притертим корком, додають 100см<sup>3</sup> 5,0% NaOH, струшу-

(13) U

(11) 42485

(19) UA

ють і залишають для екстрагування на 20-30 хвилин. По закінченні екстрагування пробу фільтрують через ватно-марлевий фільтр. Фільтрат переганяють у зворотній камері і доводять рН до 6,5 за допомогою  $\text{H}_3\text{PO}_4$  і упарюють до  $10\text{см}^3$ .

До упареного концентрату додають  $20\text{см}^3$  бензолу і екстрагують протягом 1 год., додають 20% оцтової кислоти і реекстрагують анілін протягом 30 хв. і знову упарюють до  $10\text{см}^3$ . До концентрату додають  $2\text{см}^3$  реактиву Ерліха, через 30 хв. доводять рН до 3,5 за допомогою 50% NaOH і через 10 хв. вимірюють абсорбцію в 50 мм кюветі, заповненій силікагелем при довжині хвилі 440-490 нм. Анілін із вітаваксу формує жовтий колір. Кількість порівнюють зі стандартними розчинами аніліну, який теж вимірюють колориметрично. Стандарт вміщує 1 мкг аніліну.

Приклад

Наважку зерна в кількості 100 г, вміщували у колбу, додавали  $100\text{см}^3$  5,0% NaOH, і залишали

для екстрагування на 20-30 хвилин. Пробу фільтрували. Фільтрат переганяли у зворотній камері і доводили рН до 6,5 за допомогою  $\text{H}_3\text{PO}_4$  і упарювали до  $10\text{см}^3$ . До упареного концентрату додавали  $20\text{см}^3$  бензолу і екстрагували протягом 1 год., додавали 20% оцтової кислоти і реекстрагували анілін протягом 30 хв. і знову упарювали до  $10\text{см}^3$ . До концентрату додавали  $2\text{см}^3$  реактиву Ерліха, доводили рН до 3,5 за допомогою 50% NaOH і вимірювали абсорбцію в 50 мм кюветі, заповненій силікагелем при довжині хвилі 440-490 нм. Анілін із вітаваксу формував жовтий колір. Кількість порівнювали зі стандартними розчинами аніліну, який теж вимірювали колориметрично. Стандарт вміщував 1 мкг аніліну.

Спосіб колориметричного визначення залишків карбоксину (вітаваксу) у сільськогосподарських культурах є досить чутливим, швидким і може використовуватись у лабораторіях.