



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1363060** **A1**

(5D 4 G 01 N 30/06

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4085852/23-25

(22) 04.07.86

(46) 30.12.87. Бюл. № 48

(71) Научно-исследовательский инсти-
тут животноводства Лесостепи и Поле-
сья СССР

(72) Н.А. Романов, В.В. Мирось
и Т.Л. Осипова

(53) 543,544(088.8)

(56) Cohen H., Lapointe M. J. Food
Chemistry, 1978, № 26, V. 5,
p. 1210-1213.

Двинская Л.М. Определение D-вита-
минной обеспеченности сельскохозяй-
ственных животных. - В кн: Жирораство-
римые витамины и методы их определе-
ния в биологических субстратах.
Боровск, 1979, с. 47-54.

(54) СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕ-
НИЯ ВИТАМИНА D_2 В РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМАХ

(57) Изобретение относится к аналити-
ческой химии и может быть использо-
вано для определения витамина D_2 в при-
родных соединениях методом колоночной
хроматографии. Целью изобретения яв-
ляется повышение чувствительности и
сокращение времени анализа. Исследуе-
мый образец гидролизуют спиртовым
раствором щелочи, осуществляют экст-
ракционное выделение неомыленной
фракции и отделяют примеси на хрома-
тографических колонках. Предваритель-
ное отделение каротиноидов осуществляют
на колонке с окисью алюминия. Фракцию,
содержащую витамин D_2 , отби-
рают по времени выхода витамина D_2
из колонки, растворяют в гексане, по-
дают в микроколону с силикагелем и
элюируют смесью 40-60%-ного раствора
гексана в хлороформе. Выделенный на
второй колонке витамин D_2 детектиру-
ют в УФ-спектре, 2 табл.

(19) **SU** (11) **1363060** **A1**

РПФ-К

Изобретение относится к аналитической химии и может быть использовано для количественного определения витамина D_2 в природных соединениях методом колоночной хроматографии.

Цель изобретения - повышение чувствительности и сокращение времени анализа.

Способ осуществляется следующим образом.

Исследуемый образец гидролизуют спиртовым раствором щелочи, осуществляют экстракционное выделение неомыленной фракции и отделяют примеси на хроматографических колонках. Предварительное отделение каротиноидов осуществляют на колонке с окисью алюминия. Фракцию, содержащую витамин D_2 , отбирают по времени выхода витамина D_2 из колонки, растворяют в гексане, подают в микроколону с силикагелем и элюируют смесью 40-60%-ного раствора гексана в хлороформе. Выделенный на второй колонке витамин D_2 детектируют в УФ-спектре.

Пример 1. Определение витамина D_2 в искусственных растворах с добавками и без добавок эргостерина, каротина, витаминов А и Е.

50 мл стандартного раствора витамина D_2 с добавками и без добавки эргостерина, каротина, витаминов А и Е пропускают через колонку с окисью алюминия (длина колонки 500 мм, диаметр 8 мм). Колонку промывают 50 мл гексана и элюируют витамин D_2 1,5%-ным раствором изопропанола в гексане. Фракцию, содержащую витамин D_2 , отбирают по времени выхода витамина D_2 из колонки, упаривают досуха в атмосфере инертного газа и растворяют в 500-1000 мкл гексана. 200-300 мкл пробы вводят в микроколону с силикагелем жидкостного хроматографа высокого давления "Милихром" и элюируют витамин D_2 40-60%-ным раствором гексана в хлороформе.

Детектирование ведут в УФ-спектре при 226 нм. Чувствительность определения витамина D_2 0,5 мкг (20 ИЕ) в литре; определению не мешают эргостерин, каротин, витамины А и Е в значительных избытках. Расчет содержания витамина D_2 ведут по площади хроматографического пика с учетом степени концентрирования его на хроматографической колонке.

Результаты определения витамина D_2 в искусственных растворах ($n=10$) приведены в табл. 1.

Пример 2. Определение витамина D_2 в сене люцерновом и злаковом.

Навеску корма 25 г заливают 100 мл этилового спирта, добавляют 25 мл 50%-ного раствора гидроксида калия и ведут гидролиз в течение 40 мин при 60°C в атмосфере инертного газа. Витамин D_2 экстрагируют гексаном (дважды по 20 мл) из гидролизата, разбавленного водой до 40% эталона, отмывают водой от щелочи, сушат с сернокислым натрием и пропускают через колонку с окисью алюминия. Колонку промывают 50 мл гексана и элюируют витамин D_2 1,5%-ным раствором изопропана в гексане. Фракцию, содержащую витамин D_2 , отбирают по времени выхода витамина D_2 из колонки, упаривают досуха в атмосфере инертного газа и растворяют в 500-1000 мкл гексана. 200-300 мкл пробы вводят в микроколону с силикагелем жидкостного хроматографа высокого давления "Милихром" и элюируют витамин D_2 40-60%-ным раствором гексана в хлороформе. Детектирование ведут в УФ-спектре при 266 нм.

Результаты определения витамина D_2 в сене люцерновом и злаковом ($n=10$) приведены в табл. 2.

Аналогично определяют витамин D_2 в других растительных кормах, при этом относительное стандартное отклонение не превышает 0,05.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ количественного определения витамина D_2 в растительных кормах, включающий гидролиз образца спиртовым раствором щелочи, экстракционное выделение неомыляемой фракции, многократное отделение примесей на хроматографических колонках в потоках органических элюентов и спектрофотометрическое детектирование выделенного витамина D_2 , отличающийся тем, что, с целью повышения чувствительности и сокращения времени анализа, выделенную при первом разделении фракцию витамина D_2 растворяют в гексане, а последующее отделение примесей осуществляют в потоке 40-60%-ного раствора гексана в хлороформе.

Т а б л и ц а 1

Концентрация витамина D ₂ , мкг/л	Сопутствующее вещество	Концентрация сопутствующе- го вещества, мкг/л	Найдено ви- тамина D ₂ , мкг/л	Sr
0,50	Нет	-	0,50	0,03
0,100	Нет	-	0,98	0,01
0,100	Эргостерин	100,0	0,99	0,01
	Каротин	1000,0	-	-
	Витамин А	100,0	-	-
	Витамин Е	100,0	-	-

Т а б л и ц а 2

Объект анализа	Введено витамина D ₂ , мкг/кг	Найдено витамина D ₂ , мкг/кг	Sr
Сено люцерновое	Без добавки	4,04	0,01
То же	2,50	6,60	0,02
Сено злаковое	Без добавки	0,653	0,02
То же	0,50	1,184	0,02

Составитель А. Толстых

Редактор И. Рыбченко

Техред А. Кравчук

Корректор Г. Решетник

Заказ 6397/33

Тираж 776

Подписное

ВНИИТИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4

