



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

№ SU (11) 1562849

A2

(51) G 01 N 30/06

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ  
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ  
ПРИ ГНТ СССР

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

## К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(61) 1363060  
(21) 4417548/30-15  
(22) 09.03.88  
(46) 07.05.90. Бюл. № 17  
(71) Научно-исследовательский институт животноводства Лесостепи и Полесья УССР  
(72) Н.А. Романов, В.В. Мирось и Т.Л. Осипова  
(53) 636.085 (088.8)  
(56) Авторское свидетельство СССР № 1363060, кл. G 01 N 30/06, 1987.  
(54) СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА D<sub>2</sub> В РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМАХ  
(57) Изобретение относится к аналитической химии природных соединений, в частности к определению витамина

2  
D<sub>2</sub> в растительных кормах, и является усовершенствованием способа по авт. св. № 1363060. Целью изобретения является повышение чувствительности способа за счет дополнительного отделения избытка каротиноидов из экстракта неомыляемой фракции. Дополнительное отделение каротиноидов в виде осадка осуществляется путем центрифугирования при (-10) - (-20)°C в течение 30-40 мин. Изобретение позволяет в 10 раз снизить содержание каротиноидов в экстракте, дает возможность дополнительно концентрировать витамин D<sub>2</sub> в 5 раз по сравнению с известным (авт. св. № 1363060) и довести чувствительность определений до 0,1 мкг (4 IE) в 1 кг корма.

Изобретение относится к аналитической химии природных соединений, в частности к определению витамина D<sub>2</sub> в растительных кормах, и является усовершенствованием способа по авт. св. СССР № 1363060.

Целью изобретения является повышение чувствительности способа за счет дополнительного отделения избытка каротиноидов из экстракта неомыляемой фракции.

Пр и м е р. Навеску корма 100 г заливают 400 мл этилового спирта, добавляют 100 мл 50%-ного раствора гидроксида калия и ведут гидролиз в течение 40 мин при 60°C в атмосфере инертного газа. Витамин D<sub>2</sub> экстрагируют гексаном (дважды по 20 мл) из гидролизата, разбавленного водой до

40%-ной концентрации этанола, отмывают водой от щелочи, сушат сернокислым натрием, помещают в центрифужные пробирки и центрифугируют при -15°C в течение 30 мин. Выпавшие кристаллы каротиноидов отделяют фильтрованием и пропускают анализируемый раствор через колонку с окисью алюминия. Колонку промывают 50 мл гексана и витамин D<sub>2</sub> элюируют 1,5%-ным раствором изопропанола в гексане. Фракцию, содержащую витамин D<sub>2</sub>, отбирают по времени выхода витамина D<sub>2</sub> из колонки, досуха упаривают в атмосфере инертного газа и растворяют в 400-1000 мкл гексана. Затем 200-300 мкл пробы вводят в микроколону с силикагелем жидкостного хроматографа высокого давления "Милихром" и витамин

№ SU (11) 1562849 A2

ОПФ-1

D<sub>2</sub> элюируют 40-60%-ным раствором гексана в хлороформе. Детектирование ведут в УФ-спектре при 266 нм, а содержание витамина D<sub>2</sub> рассчитывают по площади хроматографического пика

с учетом степени концентрирования его на хроматографической колонке.

Результаты определения витамина D<sub>2</sub> в различных растительных кормах приведены в таблице.

Объект анализа	Способ определения	Введено витамина D <sub>2</sub> , мкг/кг	Найдено витамина D <sub>2</sub> , мкг/кг	Ст
Сено люцерновое естественной сушки	Предлагаемый	Без добавки	5,12	0,02
То же	То же	1,00	6,20	0,02
"	Известный	Без добавки	5,09	0,02
"	То же	1,00	6,10	0,03
Сено люцерновое искусственной сушки	Предлагаемый	Без добавки	0,38	0,05
То же	То же	0,20	0,57	0,04
"	Известный	Без добавки	Не обнаружено	-
"	То же	0,20	0,56	0,04
Сено злаковое естественной сушки	Предлагаемый	Без добавки	0,72	0,03
То же	То же	0,30	1,01	0,02
"	Известный	Без добавки	0,70	0,04
"	То же	0,30	0,97	0,03
Сено злаковое искусственной сушки	Предлагаемый	Без добавки	0,14	0,05
То же	То же	0,10	0,23	0,03
"	Известный	Без добавки	Не обнаружено	-
"	То же	0,10	Не обнаружено	-
"	"	0,25	0,49	0,05
Силос кукурузный 15 мес хранения	Предлагаемый	Без добавки	0,10	0,04
То же	То же	0,10	0,21	0,05
"	Известный	Без добавки	Не обнаружено	-
"	То же	0,10	Не обнаружено	-
"	"	0,30	0,51	0,05

За счет дополнительного отделения каротиноидов из неомыляемой фракции в виде осадка путем центрифугирования при -10-20°C в течение 30-40 мин изобретение позволяет в 10 раз снизить содержание каротиноидов в экстракте неомыляемой фракции при определении витамина D<sub>2</sub> в растительных кормах. Это дает возможность дополнительно концентрировать витамин D<sub>2</sub> в 5 раз по сравнению с известным изобре-

тением и довести чувствительность определений до 0,1 мкг (4 ИЕ)/ 1 кг корма.

Достигнутая чувствительность является достаточной для анализа любых растительных кормов, в том числе и с особо малым (менее 0,5 мкг/кг) содержанием витамина D<sub>2</sub>, что дает возможность широко использовать предлагаемое изобретение в сельскохозяйственном производстве для организа-

ции рационального кормления сельскохозяйственных животных.

#### Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ количественного определения витамина D<sub>2</sub> в растительных кормах по авт.св. № 1363060, о т л и ч а ю -

щ и й с я тем, что, с целью повышения чувствительности способа за счет дополнительного отделения избытка каротиноидов из экстракта неомыляемой фракции, перед введением в колонну с окисью алюминия экстракт центрифугируют при -10-20°C в течение 30-40 мин и отделяют каротиноиды в виде осадка.

Редактор Л. Гратилло

Составитель М. Пономарева  
Техред М. Дидык

Корректор Л. Бескид

Заказ 1062

Тираж 494

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР  
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101

