

PASZE	N O R M A B R A N Ź O W A	BN-80
	Pasze	9160-18
	Oznaczanie choliny w premiksach i paszach	Grupa katalogowa 1549

1. WSTĘP

Przedmiotem normy jest oznaczanie zawartości choliny w premiksach i paszach.

2. METODA BADANIA

2.1. Zasada metody

a) w premiksach — polega na wyekstrahowaniu choliny z badanego premiksu przez wytrząsanie z wodą, wytrącaniu kompleksu choliny z solą Reinecke'a, rozpuszczanie tego kompleksu i pomiarze ekstynkcji uzyskanego barwnego roztworu w acetonie,

b) w paszach — polega na wyekstrahowaniu choliny wraz z lipidami z badanej paszy, uwolnieniu choliny pochodzenia naturalnego przez hydrolizę alkaliczną, oczyszczeniu od substancji interferujących na kolumnie z żywicą Amberlit IR-120 i ilościowym oznaczeniu choliny w reakcji z solą Reinecke'a.

2.2. Aparatura, przyrządy i materiały

- a) Waga analityczna.
 - b) Aparaty ekstrakcyjne Soxhleta składające się z kolby pojemności 100 lub 200 cm³, ekstraktora i chłodnicy kulkowej zwrotnej ze szlifem.
 - c) Łaźnia wodna — rotawator.
 - d) Kolumny szklane 25×0,9 cm.
 - e) Kolby stożkowe pojemności 100 i 200 cm³.
 - f) Cylindry pomiarowe pojemności 10; 25; 50 cm³.
 - g) Pipety pomiarowe pojemności 1; 2; 5; 10 cm³.
 - h) Lejki szklane analityczne.
 - i) Szkiełka zegarkowe.
 - j) Kolby ssawkowe pojemności 100; 300 cm³.
 - k) Lejek ze spiekem G5.
 - l) Kolby pomiarowe pojemności 25 cm³.
 - l) Spektrokolorymetr Spekol z przystawką EK-1.
 - m) Sączi ilościowe miękkie o średnicy 12,5 lub 15 cm.
 - n) Gilzy ekstrakcyjne 20×80 mm.
 - o) Lodówka.
- ### 2.3. Odczynniki i roztwory
- a) Metanol cz.d.a.
 - b) Wodorotlenek barowy cz.d.a., roztwór wodny nasycony.
 - c) Kwas solny cz.d.a., roztwór 4 i 6N.
 - d) Sól Reinecke'a, roztwór wodny nasycony: 10 g soli

wytrząsać przez pół godziny ze 100 cm³ wody destylowanej, przesączyć i zakwasić 1N roztworem kwasu solnego (1:100 v/v); przechowywać w lodówce. Trwałość — 1 miesiąc.

e) *N*-propanol cz.d.a.

f) Aceton cz.d.a.

g) Chlorek choliny cz.d.a., roztwór wzorcowy o stężeniu 2 mg/cm³.

2.4. Wykonanie oznaczania

2.4.1. Przygotowanie próbki premiksu. Z przygotowanej wg PN-75/R-64769 średniej próbki laboratoryjnej odważyć do kolby stożkowej pojemności 100 cm³ taką ilość premiksu, aby zawierała od 2 do 10 mg choliny. Dodać 20 cm³ wody destylowanej i przeprowadzić ekstrakcję przez 5-minutowe wytrząsanie.

Następnie przesączyć do takiej samej kolby stożkowej, przemywając 20 cm³ wody destylowanej. Przesącz zakwasić 1 cm³ 6N roztworu kwasu solnego.

2.4.2. Przygotowanie próbki paszy. Z przygotowanej wg PN-75/R-64769 średniej próbki laboratoryjnej odważyć do gilz ekstrakcyjnych z dokładnością do 0,0005 g taką ilość paszy, aby zawierała od 2 do 10 mg choliny (przeważnie 5 g paszy).

Gilzy umieścić w aparatach Soxhleta i przeprowadzić ekstrakcję metanolem przez 8 h. Następnie odłączyć kolby od ekstraktora, odparować metanol na łaźni wodnej lub rotawatorze i dodać 30 cm³ nasyconego roztworu wodorotlenku barowego. Hydrolizować przez 2 h ogrzewając na łaźni wodnej. Kolby przykryć szkiełkiem zegarkowym, które spełnia rolę chłodnicy zwrotnej. Zneutralizować próbkę 4N roztworem kwasu solnego i przesączyć do kolb stożkowych pojemności 100 cm³, przemywając 20 cm³ wody destylowanej. Przesącz nanosić na kolumnę wypełnioną warstwą żywicy Amberlit R-120 (kationit — forma wodorowa) o grubości 10 cm, umieszczonej nad niewielką warstwą waty szklanej. Zatrzymaną na żywicy cholinę eluować 40 cm³ roztworu kwasu solnego 4N do kolb stożkowych pojemności 100 cm³. Po każdej analizie żywicę przemywać wodą destylowaną, aż do uzyskania odczynu obojętnego.

2.4.3. Wywołanie reakcji barwej. Do próbek przygotowanych wg p. 2.4.1 i 2.4.2 dodać 10 cm³ nasyconego roztworu soli Reinecke'a i wstawić do zamrażalnika lodówki na 1 h. Wytrącony kompleks

Zgłoszona przez Zjednoczenie Przemysłu Paszowego BACUTIL
Ustanowiona przez Dyrektora Zjednoczenia Przemysłu Paszowego BACUTIL dnia 26 listopada 1980 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1981 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 1/1981 poz. 3)

choliny z solą Reinecke'a odsączyć pod zmniejszonym ciśnieniem przez lejek ze spiekem G5, przemywając 3 razy 5 cm³ wody destylowanej o temperaturze około 5°C i 2 cm³ *n*-propanolu. Pozostały na spieku osad rozpuścić w 20 cm³ acetonu i uzupełnić tym rozpuszczalnikiem do kreski w kolbach pomiarowych pojemności 25 cm³. Pomiary ekstynkcji uzyskanego roztworu wykonywać w spektrokolorymetrze Spekol z przystawką EK-1, w kuwetach o warstwie pomiarowej 1 cm, przy długości fali światła 520 nm. Próbę odniesienia stanowi aceton.

2.4.4. Sporządzanie krzywej wzorcowej. Sporządzić roztwór wzorcowy chlorku choliny o stężeniu 2 mg/cm³. Do ośmiu kolb stożkowych pojemności 100 cm³ pobrać 1; 2; 3... cm³ tego roztworu i uzupełnić wodą destylowaną do objętości 40 cm³.

Wytrącanie kompleksu choliny z solą Reinecke'a i dalsze czynności wykonywać jak w 2.4.3. Wykreś-

lić krzywą wzorcową, odkładając na osi rzędnych wartości ekstynkcji, a na osi odciętych zawartość chlorku choliny w mg.

2.4.5. Obliczanie wyniku. Zawartość chlorku choliny (*X*) obliczyć w gramach na 1 kg paszy wg wzoru

$$X = \frac{a}{w}$$

w którym:

a — ilość chlorku choliny odczytana z krzywej wzorcowej, mg,

w — naważka paszy, g.

2.5. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej dwu równoległych oznaczeń. Wynik podać z dokładnością do 1 miejsca po przecinku.

Dopuszczalna różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń nie powinna przekraczać 10% błędu względnego.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Zjednoczenie przemysłu Paszowego BACUTIL, Warszawa.

2. Normy związane

PN-75/R-64769 Pasze. Pobieranie próbek