Глава 3. Химический анализ образцов комбикормов ООО «Провими» и ООО «Железногорский комбикормовый завод»

### §3.1 Определение наличия аминокислот методом бумажной хроматографии

Цель данной работы – разделить и идентифицировать аминокислоты, смесь которых дана в виде раствора.

На полоске фильтровальной бумаги размером 5х10 см прочертили простым карандашом линию старта. Нанесли на эту линию растворы аминокислот (пятнышко диаметром 2-3 мм). Зафиксировали эту полоску с помощью стеклянной палочки с резиновыми пробками в широкогорлой стеклянной банке в подвешенном состоянии так, что ее нижний конец был погружен в растворитель (бутиловый спирт – уксусная кислота - вода 4: 1: 1) ниже линии старта.

Растворитель быстро поднялся по волокнам листа фильтровальной бумаги: за 20-25 минут на высоту 5-6 см. После этого вынули полученную хроматограмму, высушили и смочили 0,2-0,5%-ным ацетоновым раствором нингидрина (для повышения чувствительности реакции в раствор добавили несколько капель уксусной кислоты). Затем хорошо прогрели хроматограмму над электроплиткой до появления красно-фиолетовых пятен (так называемый пурпур Руэмана – продукт взаимодействия аминокислот с нингидрином).

Поскольку аминокислоты имеют разную растворимость в воде и органической фазе (бутиловый спирт), каждая из них имеет на хроматограмме определенную высоту. Аналогичный эксперимент выполнен с образцами комбикормов. Полученные нами данные свели в таблицы №2 и №3.

Rf зависит от природы носителя, техники эксперимента, свойств бумаги, температуры.

 Рис.1Хроматографический анализ аминокислот

Таблица №2. Хроматографический анализ «свидетелей»

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Аминокислота | Фронт распределителя | Путь, пройденный компонентом  см | Rf |
| Лизин | 7,8 | 2,2 | 0,28 |
| Треонин | 7,8 | 4,5 | 0,58 |
| Метионин | 7,8 | 6,8 | 0,87 |

Рисунок 2. Хроматограмма образцов комбикормов ООО «Провими» (К) и ООО «Железногорский комбикормовый завод» (Ж)



Таблица №3. Хроматографический анализ образцов комбикормов

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Изготовитель | Фронт раство-  рителя,  см | Путь, пройденный компонентом  См | Rf | Rf  свидетеля | Вывод |
| ООО «Железногорский  комбикормовый завод» | 7,5 | 1,4 | 0,2 |  | ? |
| 2 | 0,27 | 0,28 | Соответствует лизину |
| 4,5 | 0,6 | 0,58 | Соответствует треонину |
| 6,5 | 0,87 | 0,87 | Соответствует метионину |
| ООО «Провими» | 7,5 | 1,5 | 0,2 |  | ? |
| 2 | 0,27 | 0,28 | Соответствует лизину |
| 4,3 | 0,57 | 0,58 | Соответствует треонину |
| 6,4 | 0,85 | 0,87 | Соответствует метионину |

Качественный состав комбикорма определяется по значению Rf каждого пятна. Коэффициент распределения лизина - 0,28, треонина - 0,58, метионина - 0,87.

Результат хроматографического анализа: в исследуемых образцах комбикормов присутствуют как гидрофильные (лизин), так и гидрофобные аминокислоты (метионин, треонин).

Анализ образцов разных производителей дал приблизительно одинаковые результаты.

Кроме этого хроматограмма образцов показала наличие гидрофильной аминокислоты с Rf - 0,2. Предполагаю, что такой аминокислотой может быть глицин, который тоже вводится в комбикорм.



Таким образом, в образцах исследуемых комбикормов обнаружены следующие аминокислоты: метионин, треонин, лизин и глицин.

§3.2 Определение общей кислотности комбикормов

Принцип метода заключается в титровании водной вытяжки корма раствором щелочи.

*Приборы, материалы, реактивы*. Весы, колбы мерные на 50 и 100 мл, колбы конические на 250 и 500 мл; пипетка на 25 мл, цилиндры вместимостью 250 мл, бумага фильтровальная лабораторная; 0,1 н. раствор гидрата окиси натрия или калия, натрий тетраборнокислый (бура); 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина, 0,1%-ный водный раствор метилового оранжевого, барий хлористый, спирт этиловый, кислота серная 0,1 н. раствор.

*Приготовление 0,1 н. раствора серной кислоты.* Отмерили 2,8 мл концентрированной кислоты и развели в 1 л дистиллированной воды.

*Установление титра серной кислоты.* Навеску перекристаллизованной буры массой около 0,4 г, взвешенную с точностью до 0,001 г, растворили в 25 мл воды, прибавили 2 капли метилового оранжевого и титровали из бюретки серной кислотой до розовой окраски при постоянном помешивании стеклянной палочкой. Количество 0,1 н. раствора серной кислоты, израсходованное на титрование буры, установили как среднее арифметическое результатов трех определений.

Таблица №4. Определение титра серной кислоты

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  пробы | m буры,  г | V1(H2SO4),  мл | V2(H2SO4),  мл |
| 1 | 0,4 | 26,4 | 1 |
| 2 | 0,4 | 26,4 | 0,9 |
| 3 | 0,4 | 26,3 | 0,9 |
| Среднее ариф. | 0,4 | 26,4 | 1 |

Поправку к титру вычислили по формуле:

M \* 49,04

Kc =

190,85 \* 0,0049 \* (V1-V2)

где М – масса навески буры, г; 49,04 – молярная эквивалента серной кислоты, г/моль; 190,85 – эквивалентная масса буры, г; 0,0049 – содержание серной кислоты в 1 мл 0,1 н. раствора, г; V1 – объем 0,1 н. раствор серной кислоты, израсходованное на титрование навески буры, мл; V2 – объем 0,1 н. раствора серной кислоты, израсходованное на титрование 25 мл воды в контрольном опыте без добавления буры, мл.

Kc =  0,4 \* 49,04 : (190,85 \* 0,0049(26,4 – 1)) = 0, 826

*Приготовление 0,1 н. раствора щелочи.* Взвесили около 5 г х. ч. едкого натра и растворили в 1 л. воды. К полученному раствору добавили небольшое количество хлористого бария, дали отстояться.

*Установление титра едкого натра*. Поправку к титру 0,1 н. раствора щелочи устанавливали по 0,1 н. раствору серной кислоты, которого в колбу налили 20 мл, прибавили 2 капли раствора метилового оранжевого и титровали приготовленным раствором щелочи до желтой окраски. Для получения более точного результата провели три титрования и взяли среднее из них.

Таблица №5. Определение титра щелочи

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  пробы | Кс | V(H2SO4),  мл | V1(NaOH),  мл |
| 1 | 0,826 | 20 | 19,2 |
| 2 | 0,826 | 20 | 19 |
| 3 | 0,826 | 20 | 19 |
| Среднее ариф. | 0,826 | 20 | 19 |

Поправку к титру 0,1 н. раствора щелочи (Кщ) вычислили по формуле:

Кщ = (V \* Кс): V1, где Кс – поправка к титру 0,1 н. раствора серной кислоты; V – количество 0,1 н. раствора серной кислоты, мл; V1 – количество 0,1 н. раствора щелочи, израсходованного на титрование 20 мл 0,1 н. раствора серной кислоты, мл.

Кщ  = 20 \* 0,826: 19 = 0,869

*Приготовление 0,1%-ного раствора фенолфталеина.*1 г фенолфталеина растворили в этиловом спирте и довели раствор до 100 мл. *Приготовление 0,1%-ного раствора метилового оранжевого.* 0,1 г метилового оранжевого растворили в 80 мл горячей воды и после охлаждения довели объем раствора дистиллированной водой до 100 мл.

*Проведение анализа.* 25 г комбикорма поместили в сухую колбу вместимостью 500 мл, прилили 250 мл дистиллированной воды и, закрыв колбу пробкой, взбалтывали непрерывно в течение 10 минут. Раствору дали отстояться в течение 35 минут, после чего отфильтровали через сухой фильтр в колбу. Первые порции фильтрата отбросили, а затем 25 мл перенесли пипеткой в коническую колбу и титровали 0,1 н. раствором едкого натра в присутствии фенолфталеина до слабо-розового окрашивания.

Общую кислотность комбикорма (Х) в градусах Неймона вычислили по формуле: Х = 4 \* Кщ \* V1, где Кщ – поправка к титру 0,1 н. раствора щелочи; V1 – количество 0,1 н. раствора щелочи израсходованное на титрование, мл.

Полученные нами данные свели в таблицу №6.

Таблица №6. Определение общей кислотности корма

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | ПК  (птичий комби-  корм) | m  про-  бы,  г | V(NaOH),  мл | Общая кислот- ность | Общая кислот-  ность  (норма) | Вы- вод |
| ООО «Железногор-  ский  комбикормо-  вый завод» | 50  (1-7 дней) | 25 | 1 | 3,476 | До 5 | норма |
| 51  (8-14 дней) | 25 | 0,9 | 3,128 | До 5 | норма |
| 52  (15-28 дней) | 25 | 0,35 | 1,217 | До 5 | норма |
| 6  (29-40 дней) | 25 | 0,6 | 2,087 | До 5 | норма |
| ООО «Прови- ми» | 52  (1-20 дней) | 25 | 0,65 | 2,259 | До 5 | норма |

Согласно полученным данным, образцы не превышают общую кислотность и соответствуют нормативным требованиям качества корма.

§3.3 Определение содержания NaCl в комбикормах

Принцип метода заключается в осаждении белковых веществ раствором азотной кислоты и титровании хлоридов в кислотной вытяжке. Соль, входящая в состав комбикорма, извлекается из него водой, и полученный после фильтрации водный раствор соли реагирует с раствором азотнокислого серебра, образуя с ним нерастворимый хлорид серебра.

*Приборы, материалы и реактивы*. Весы аналитические, колбы мерные на 100, 200 и 1000 мл, колбы конические на 250 мл, пипетки мерные на 20 и 50 мл, промывалка. Кислота азотная (10 %): 110 мл концентрированной серной кислотой ( плотность 1, 4 г/см3) растворили в мерной колбе на 1000 мл дистиллированной водой. Серебро азотнокислое: 8, 5 азотнокислого серебра растворили в дистиллированной воде в колбе на 1000 мл (0,05 н. раствор). Квасцы железо-аммонийные, насыщенный раствор: 500 г квасцов растворили в 1 л кипящей дистиллированной воды; раствор охлаждали, помещая в колбу в холодную воду, выпавшие кристаллы отделили фильтрованием и к полученному раствору прилили небольшими порциями концентрированную азотную кислоту до тех пор, пока раствор не стал просветляться (около 40 мл). Аммоний роданистый (0,05 н. раствор): 4 г роданистого аммония растворили в дистиллированной воде в мерной колбе на 1000 мл. Калий хромовокислый (10 %-ный раствор): 10 г соли растворили в 90 г воды. Натрий хлористый (0,05 н. раствор): 2,9227 г хлористого натрия растворили в воде в мерной колбе на 1000 мл.

*Установление титра нитрата серебра.* Титр устанавливали по 0,05 н. раствора хлористого натрия. Для этого в коническую колбу на 250 мл отмерили бюреткой 20 мл 0,05 н. раствора хлористого натрия, добавили 4 капли 10 % - ного раствора хлористого калия и титровали раствором нитрата серебра при постоянном энергичном помешивании до изменения цвета раствора со взмученным в нем осадкам от лимонного до слабо – оранжевого.

Таблица №7. Определение титра нитрата серебра

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  пробы | Т | V( NaCl),  мл | V1 ( AgNO3),  мл |
| 1 | 1 | 20 | 66 |
| 2 | 1 | 20 | 66 |
| 3 | 1 | 20 | 65,8 |
| Среднее ариф. | 1 | 20 | 66 |

Поправку к титру 0,05 н. раствора нитрата серебра (Т1) вычислили по формуле:

Т1 = ( Т \* V) : V1, где Т – титр 0,05 н. раствора хлористого натрия, равный 1; V – объём раствора хлористого натрия, мл; V1 – объём 0,05 н. раствора азотнокислого серебра, израсходованный на титрование, мл. Т1 = (1 \* 20 мл): 66 мл = 0,3

*Установление титра роданистого аммония.* В коническую колбу на 250 мл отмерили бюреткой 25 мл 0,05 н. раствора азотнокислого серебра, добавили 2 мл насыщенного раствора железо-аммонийных квасцов, 50 – 100 мл дистиллированной воды и титровали раствором роданистого аммония до исчезающей слабо-оранжевой окраски.

Таблица №8. Определение титра роданистого аммония

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  пробы | Т1 | V1 ( AgNO3),  мл | V2 (NH4CNS),  мл |
| 1 | 0,3 | 25 | 18,7 |
| 2 | 0,3 | 25 | 18,8 |
| 3 | 0,3 | 25 | 18,7 |
| Среднее ариф. | 0,3 | 25 | 18,73 |

Поправку к титру роданистого аммония (Т2) вычислили по формуле:

Т2 = (V1 \* Т1): V2, где V1 – объем 0,05 н. раствора азотнокислого серебра, мл; Т1 – поправка к титру 0,05 н. раствора азотнокислого серебра; V2 – объем 0,05 н. раствора роданистого аммония, израсходованного на титрование, мл.

Т2 = (25 мл \* 0,3):18,73 мл = 0,4

*Проведение анализа.* Навеску каждого испытуемого продукта массой по 2 г взвесили с точностью до 0,0002 г и поместили в мерную колбу на 200 мл, налили 20 мл 10%-ного раствора азотной кислоты. Содержимое колбы встряхнули, чтобы оно увлажнилось кислотой, и прилили 100 – 200 мл дистиллированной воды. Раствор в колбе периодически взбалтывали в течение 5 минут, довели до метки дистиллированной водой, перемешали и дали раствору отстояться не менее 1 минуты. Далее пипеткой на 50 мл, опущенной в колбу с таким расчётом, чтобы она не касалась осадка, отобрали 50 мл раствора и перенесли в коническую колбу на 250 мл. К раствору прилили 2 мл насыщенного раствора железо-аммонийных квасцов и бюреткой добавляли избыточное количество (5 или 10 мл) титрованного 0,05 н. раствора азотнокислого серебра. Избыток серебра оттитровали 0,05 н. раствором роданистого аммония. Титрование проводили при энергичном помешивании содержимого колбы. В конце титрования, когда окрашивание падающих капель становится более интенсивным и сравнительно устойчивым, роданистый аммоний добавляли по одной капле в секунду. Титрование закончили, когда раствор окрасился в слабо-оранжевый цвет, который не исчезал 10 –15 секунд. Содержание поваренной соли вычислили по формуле:

Х = (а \* Т1\* b\* T2) \* 100\* 0,002922 \*V

B\*M

где Х – содержание соли, %; а – количество 0,05 н. раствора азотнокислого серебра, добавленное к испытуемому раствору, мл; Т1 – поправка к титру 0,05 н. раствора азотнокислого серебра; b – объем 0,05 н. раствора роданистого аммония, израсходованного при титровании, мл; Т2 – поправка к титру 0,05 н. раствора роданистого аммония; 0,002922 – количество хлористого натрия, соответствующее 1 мл 0,05 н. раствора азотнокислого серебра, г; V – объем жидкости в мерной колбе, мл; B – количество раствора, взятое для титрования, мл; М – масса навески, г.

Полученные нами данные свели в таблицу №9.

Таблица №9. Содержание NaCl в корме

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | m  пробы  г | V (NH4CNS)  л | Содержание  NaCl  % | Содержание  NaCl (норма)  % | Вывод |
| ООО «Железногорс  кий  комбикормовый  завод» | 2 | 4 | 0,39 | 0,25-0,40 | Норма |
| ООО «Провими» | 2 | 4,5 | 0,45 | 0,25-0,40 | Превышение  нормы |

## Согласно данным таблицы, превышение поваренной соли наблюдается в комбикорме, производителя ООО «Провими».

§3.4 Определение кальция и магния методом комплексометрического титрования

Титрование проводили в присутствии индикатора – хромогена черного в слабощелочной среде (pH 9 – 10) , которая создается аммонийной буферной смесью. Титруют раствором трилона Б (комплексон III) до изменения окраски от винно-красной до сине-фиолетовой.

Ход анализа.

В колбу для титрования отмерили пипеткой 10 мл фильтрата исследуемого комбикорма и прилили 5 мл аммонийной буферной смеси. Добавили 7 – 8 капель индикатора (хромогена черного) до появления хорошо заметной винно-красной окраски. Фильтрат титровали 0,05 н раствором трилона Б (комплексона III) до перехода винно-красной окраски в сине- фиолетовую, помешивая круговыми движениями. Титрование повторили 3 раза и из сходящихся отсчетов взяли среднее.

Таблица №10. Определение объема 0,05 н раствором трилона Б

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Объем трилона Б,  мл | № пробы | ООО «Железногорский  комбикормовый завод» | ООО «Провими» |
| 1 | 42 | 40 |
| 2 | 41 | 40 |
| 3 | 42 | 41 |
| Среднее ариф. | 42 | 40 |

Содержание Са2+, Mg2+ рассчитали по формуле:

Ж(общ) = V1 Cn k 1000 (мг-экв/л),

V2

где Cn – нормальность раствора трилона Б;

V1 – объем трилона Б(мл);

V2 – объем фильтрата (мл).

Полученные нами данные свели в таблицу №11.

Таблица №11. Содержание Са2+, Mg2+

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Нормаль-  ность раствора трилона Б,  М | Объем фильт-рата,  мл | Объем трилона Б,  мл | Содержа-  ние  Са2+, Mg2+,  мг-экв/л |
| ООО «Железногор-  ский  комбикормо-  вый завод» | 0,05 | 10 | 42 | 210 |
| ООО«Прови-  ми» | 0,05 | 10 | 40 | 200 |

Согласно данным эксперимента общее содержание ионов кальция и магния практически одинаково и соответствует установленным нормам.

3.5. Определение общей влажности комбикормов экспресс-методом

Предварительно подготовленные стеклянные бюксы, прогретые в сушильном шкафу при температуре 1300С до постоянной массы, заполнили навеской корма (5 г) и поставили на 1 час в сушильный шкаф, нагретый до 1300С. После этого бюксу с высушенным кормом охладили в эксикаторе и взвесили.

Таблица №12. Определение общей влажности комбикорма

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | ООО «Железногорский комбикормовый завод» | | | ООО «Провими» | | |
| № пробы | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| m  пустой бюксы, г | 25,4 | 24,8 | 25,1 | 25,7 | 24,9 | 24,8 |
| m  масса бюксы с кормом до высушивания, г | 30,4 | 29,8 | 30,1 | 30,7 | 29,9 | 29,8 |
| m  бюксы с кормом после высушивания, г | 29,9 | 29,3 | 29,6 | 30,2 | 29,4 | 29,3 |
| m  бюксы с кормом после высушивания  (на 15 мин), г | 29,9 | 29,3 | 29,6 | 30,2 | 29,4 | 29,3 |

Общую влажность корма вычислили по формуле:

M – M2

OB = ,

M1- M

где ОВ – общая влажность, %; М – масса пустой бюксы, г; М1 – масса бюксы с кормом до высушивания, г; М2 – масса бюксы с кормом после высушивания,г.

Полученные данные свели в таблицу №13.

Таблица №13. Общая влажность комбикорма

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | m  навески корма,  г | m  пустой бюксы,  г | m  масса  бюксы с кормом до высуши  вания,  г | m  бюксы с кормом  после высуши  вания, г | Общая влаж  ность,  % | Общая влаж  ность,  %  (норма) | Вывод |
| ООО «Железно  горский комбикор  мовый завод» | 5 | 25,1 | 30,1 | 29,6 | 10 | 10-14 | норма |
| ООО «Провими» | 5 | 25,13 | 30,13 | 29,63 | 10 | 10-14 | норма |

Согласно полученным данным, образцы комбикормов соответствуют норме общей влажности.