МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 31486—2012

ПРЕМИКСЫ

Метод определения содержания витамина K_3

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2012

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 41 от 23—24 мая 2012 г.)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азгосстандарт
Армения	AM	Минторгэкономразвития
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 сентября 2012 г. № 446-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31486—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 53027—2008

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта публикуется в указателе «Национальные стандарты».

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе «Национальные стандарты», а текст изменений — в информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Национальные стандарты»

© Стандартинформ, 2012

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРЕМИКСЫ

Метод определения содержания витамина K_3

Premixes.
Method for determination of vitamin K_3

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на премиксы и устанавливает фотометрический метод определения витамина K_3.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 83—79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 1942—86 1,2-Дихлорэтан технический. Технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3760—79 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13496.0—80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стан-

Издание официальное

дарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Диапазоны измерений содержания витамина K_3 и метрологические характеристики метода

Диапазоны измерений содержания витамина K_3 и значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности при вероятности $P = 0,95$ приведены в таблице 1.

Таблица 1

Диапазон измерений, г/т	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратичное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратичное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности) $\pm\ \delta$, %
От 0 до 100 включ.	4,8	7,1	14
Св. 100 до 500 »	2,9	5,1	10
» 500 » 1000 »	2,7	4,9	9,6

4 Требования техники безопасности

4.1 При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, ГОСТ 12.1.018 и электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

4.2 Помещение, в котором проводят измерения, должно быть снабжено приточно-вытяжной вентиляцией. Работу с реактивами необходимо проводить в вытяжном шкафу.

4.3 При работе с концентрированными кислотами и щелочами необходимо использовать резиновые перчатки.

5 Отбор и подготовка проб к выполнению анализа

5.1 Отбор проб — по ГОСТ 13496.0.

Допускается отбирать пробы премиксов, упакованных в бумажные мешки, мешочным щупом с последующим заклеиванием отверстия.

5.2 Подготовка пробы к анализу — по [1].

6 Определение содержания витамина K_3

Сущность метода заключается в извлечении витамина K_3 из исследуемой пробы этиловым спиртом, реэкстракции 1,2-Дихлорэтаном и фотометрировании продукта цветной реакции его с (2,4-Динитрофенил)-гидразином при длине волны 635 нм.

6.1 Средства измерений, оборудование, материалы и реактивы

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более $\pm 0,0001$ г.

Фотоэлектроколориметр с рабочим спектральным диапазоном от 315 до 980 нм с основной погрешностью измерений коэффициента пропускания не более 1 % или спектрофотометр типа СФ.

Аппарат для встряхивания жидкости типа АВУ-1.

Центрифуга лабораторная ЦЭ-2 с числом оборотов 3000 об/мин.

Баня водяная с регулятором нагрева.

Колбы конические $К_н$-2-(250)-(34, 40) ТХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 1(2)-2-25(100) по ГОСТ 1770.

Пипетки градуированные 2(3)-1(2)-2-0,5(1,0; 2,0; 5,0; 10; 25) по ГОСТ 29227.

Пипетки с одной меткой 1(2)-2-2(10, 20, 25, 50) по ГОСТ 29169.

Цилиндры 1(3)-50(100) по ГОСТ 1770.

Воронки лабораторные В-36(56, 75)-50(80, 110) ХС по ГОСТ 25336.

Воронки делительные ВД-1-250 ХС по ГОСТ 25336.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026 или фильтры «красная лента».

Аммиак водный по ГОСТ 3760.

(2,4-Динитрофенил)-гидразин.

Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья с объемной долей этилового спирта 96,0 %—96,3 %.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Витамин $К_3$ менадион (2-метил-1,4-нафтохинон) фирмы Supelko

1, 2-Дихлорэтан по ГОСТ 1942.

Натрий углекислый по ГОСТ 83, раствор с массовой долей углекислого натрия 10 %.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Примечания

1 Допускается применение средств измерений, вспомогательного оборудования с аналогичными метрологическими и техническими характеристиками, а также материалов и реактивов, по качеству не ниже указанных.

2 Все реактивы должны быть квалификации х.ч. или ч.д.а.

6.2 Подготовка к выполнению анализа

6.2.1 Приготовление раствора (2,4-Динитрофенил)-гидразина

80 мг (2,4-Динитрофенил) - гидразина, взвешенного с погрешностью не более ±0,01 мг, помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют при нагревании до 70 °С на водяной бане в 80 $см^3$ этилового спирта по 6.1, охлаждают до комнатной температуры, добавляют 2 $см^3$ соляной кислоты (35 %—38 %) и доводят содержимое в колбе до метки этиловым спиртом, тщательно перемешивают.

6.2.2 Приготовление раствора этилового спирта с массовой долей 40 %

В стеклянную емкость вносят 40 $см^3$ этилового спирта, приливают 56 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают.

6.2.3 Приготовление стандартного раствора витамина $К_3$

Навеску витамина $К_3$ массой 10 мг, взвешенную с погрешностью не более ±0,1 мг, переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, приливают до метки этиловый спирт с массовой долей 40 % и тщательно перемешивают.

Затем 10 $см^3$ полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки этиловым спиртом с массовой долей 40 % и перемешивают.

25 $см^3$ полученного раствора отбирают в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ 1,2-Дихлорэтана, 20 $см^3$ раствора углекислого натрия с массовой долей 10 % и перемешивают в течение 0,5—1,0 мин. Раствор отстаивают до разделения фаз. Затем фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтана (нижнюю), переносят в другую делительную воронку, добавляют 20 $см^3$ дистиллированной воды и перемешивают в течение 0,5 мин. После перемешивания раствор снова отстаивают до фазоразделения и фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтана, фильтруют через бумажный беззольный фильтр. Получают стандартный раствор витамина $К_3$, в 1 $см^3$ которого содержится 5 мкг витамина $К_3$. Раствор витамина $К_3$ хранят в холодильнике при температуре от 4 °С до 6 °С.

6.2.4 Построение градуированного графика

В 10 мерных колб вместимостью по 25 $см^3$ приливают стандартный раствор витамина $К_3$ (см. 6.2.3) в объемах, указанных в таблице 2.

Таблица 2 — Растворы сравнения

Наименование показателя	Номера колб									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Объем стандартного раствора, $см^3$	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
Масса витамина $К_3$, мкг/25 $см^3$	2,5	5	10	15	20	25	30	35	40	45

В каждую из 10 колб приливают по 7,5 $см^3$ раствора (2,4-Динитрофенил)-гидразина и помещают их в водяную баню одновременно с испытуемыми и контрольным растворами (см. 6.2.5) на 2 ч при температуре (70 ± 2) °С, периодически перемешивая содержимое колб. После этого растворы в колбах охлаждают

до комнатной температуры, приливают в каждую колбу по 7,5 см^3 смеси этилового спирта по 6.1 и водного аммиака с массовой долей 25 % в объемном соотношении 1:1, перемешивают, доводят объемы в колбах до метки этиловым спиртом, тщательно перемешивают и измеряют оптические плотности растворов сравнения в порядке возрастания их концентраций на спектрофотометре при длине волны 635 нм или фотоэлектроколориметре с красным светофильтром при длине волны (625 ± 25) нм в кювете толщиной поглощающего свет слоя 10 мм относительно контрольного раствора.

По полученным данным строят градуировочный график, откладывая на оси ординат значения оптической плотности растворов сравнения, на оси абсцисс — содержание витамина K_3, мкг/25 см^3 раствора.

6.2.5 Приготовление контрольного раствора

5 см^3 1,2-Дихлорэтана отбирают в мерную колбу вместимостью 25 см^3, приливают 7,5 см^3 раствора (2,4-Динитрофенил) - гидразина. Колбу помещают в водяную баню одновременно с испытуемыми пробами и растворами сравнения, далее проводят ту же самую обработку, что и с испытуемой пробой по 6.3.2 и 6.3.3.

6.3 Проведение анализа

6.3.1 Навеску премикса массой от 5 до 10 г, взвешенную с погрешностью не более ± 0,01 г, помещают в колбу вместимостью 250 см^3, приливают 100 см^3 этилового спирта с массовой долей 40 %, встряхивают на аппарате в течение 15 мин и центрифугируют в течение 10 мин при 3000 об/мин. Центрифугат фильтруют для устранения случайно оставшихся взвешенных частиц. Отбирают от 5 до 25 см^3 фильтрата в зависимости от предполагаемого содержания витамина K_3 в испытуемом образце премикса, в делительную воронку вместимостью 250 см^3 приливают 50 см^3 1,2-Дихлорэтана и 20 см^3 раствора углекислого натрия с массовой долей 10 % и перемешивают в течение 0,5—1,0 мин.

Раствор отстаивают до разделения фаз. Затем фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтана, в полном объеме переносят в другую делительную воронку, приливают в нее 20 см^3 дистиллированной воды и перемешивают в течение 0,5 мин.

После этого раствору снова дают отстояться до фазоразделения и фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтана, фильтруют через бумажный беззольный фильтр.

6.3.2 5 см^3 1,2-Дихлорэтанового экстракта испытуемых проб отбирают в мерную колбу вместимостью 25 см^3, приливают 7,5 см^3 раствора (2,4-Динитрофенил)-гидразина (см. 6.2.1), колбу помещают в водяную баню и выдерживают ее 2 ч при температуре (70 ± 2) °С, периодически перемешивая содержимое колбы.

6.3.3 По истечении указанного времени содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, приливают 7,5 см^3 смеси этилового спирта по 6.1 и водного аммиака с массовой долей 25 % в объемном соотношении 1:1, доводят объем в колбе этиловым спиртом до метки, тщательно перемешивают и измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 635 нм или фотоэлектроколориметре с красным светофильтром при длине волны (625 ± 25) нм в кювете толщиной поглощающего свет слоя 10 мм относительно контрольного раствора (см. 6.2.5). Раствор готовят в день проведения анализа.

7 Обработка результатов анализа

7.1 Содержание витамина K_3 в премиксе X, г/т, вычисляют по формуле

$$X = \frac{c v v_2 \cdot 10^6}{m v_1 v_3 \cdot 10^6}, \qquad (1)$$

где с — масса витамина K_3, найденная по градуировочному графику, мкг;

v — объем спиртового экстракта, см^3;

v_2 — объем 1,2-Дихлорэтана, взятый для экстракции, см^3;

10^6 — коэффициент перевода микрограммов в граммы;

m — масса навески премикса, г;

v_1 — объем фильтрата спиртового экстракта, взятый для экстрагирования 1,2-Дихлорэтаном, см^3;

v_3 — объем 1,2-Дихлорэтанового экстракта, взятый для окрашивания, см^3;

10^6 — коэффициент перевода граммов в тонны.

7.2 Вычисления выполняют с точностью до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

8 Оформление результатов анализа

При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения, начиная со взятия навески испытуемой пробы. Если расхождение между результатами параллельных определений не превышает допустимое $|X_1 - X_2| \leq 0{,}01r\overline{X}$ (X_1, X_2, $\overline{X}$ — результаты первого и второго параллельных определений и их среднеарифметическое значение соответственно), то среднеарифметическое значение принимают за результат анализа. В противном случае получают еще два результата определений и вычисляют окончательный результат анализа пробы по [2] (подраздел 5.2).

Значения предела повторяемости r и предела воспроизводимости R приведены в таблице 3.

Таблица 3

Диапазон измерений, г/т	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений) r, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях) R, %
От 0 до 100 включ.	13	20
Св. 100 » 500 »	8	14
» 500 » 1000 »	8	14

По полученному результату анализа и значению относительной погрешности δ (см. таблицу 1) рассчитывают абсолютную погрешность по формуле

$$\Delta = 0{,}01\delta\overline{X}, \tag{4}$$

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Результат анализа представляют в виде ($\overline{X} \pm \Delta$), %. Допускается представление результата в виде ($\overline{X} \pm \Delta_л$), %, где $\Delta_л$ — значение характеристики погрешности результатов анализа, установленное при реализации методики в конкретной лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов анализа, при условии $\Delta_л \leq \Delta$.

Библиография

[1] ИСО 6498:1998 Корма для животных. Приготовление проб для испытания

[2] ИСО 5725-6:1994 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

УДК 636.085.55:006.354 МКС 65.120 С19

Ключевые слова: премиксы, витамин K_3, метод, оптическая плотность, спектрофотометр, фотоэлектроколориметр

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.Е. Нестерова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 29.10.2012. Подписано в печать 15.11.2012. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70. Тираж 115 экз. Зак. 1034.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.