
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
53027—
2008

ПРЕМИКСЫ

Метод определения содержания витамина К₃

Издание официальное

БЗ 9—2008/277



Москва
Стандартинформ
2009

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0 — 2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 4 «Комбикорма, белково-витаминно-минеральные концентраты, премиксы»

3 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 декабря 2008 г. № 364-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2009

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

ПРЕМИКСЫ

Метод определения содержания витамина К₃

Premixes.
Method for determination of vitamin K₃

Дата введения — 2010—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на премиксы и устанавливает фотометрический метод определения витамина К₃.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

- ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике
- ГОСТ Р 51419—99 (ИСО 6498—98) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб
- ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия
- 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

П р и м е ч а н и е — 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 стандарт 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 К₃ и метрологические характеристики метода

Диапазоны измерений содержания витамина К₃ и значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности при вероятности $P = 0,95$ приведены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Диапазон измерений, г/г	Показатель повторяемости (относительное средне-квадратичное отклонение повторяемости) σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное средне-квадратичное 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 проводится выполнение измерений, 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 ГОСТ Р 51419.

6 Определение содержания витамина К₃

Сущность метода заключается в извлечении витамина К₃ 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» по техническому документу [1].

Аммиак водный по ГОСТ 3760.

(2,4-Динитрофенил)-гидразин по техническому документу [2].

Спирт этиловый по ГОСТ Р 51652.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Витамин К₃ 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.

П р и м е ч а н и я

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 $\pm 0,01$ мг, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют при нагревании до 70 °С на водяной бане в 80 см³ этилового спирта, охлаждают до комнатной температуры, добавляют 2 см³ соляной кислоты 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 см³ этилового спирта, приливают 56 см³ дистиллированной воды, перемешивают.

6.2.3 Приготовление стандартного раствора витамина К₃

Навеску витамина К₃ массой 10 мг, взвешенную с погрешностью не более $\pm 0,1$ мг, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, приливают до метки этиловый спирт с массовой долей 40 % и тщательно перемешивают.

Затем 10 см³ полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят до метки этиловым спиртом с массовой долей 40 % и перемешивают.

25 см³ полученного раствора отбирают в делительную воронку вместимостью 250 см³, добавляют 50 см³ 1,2-Дихлорэтана, 20 см³ 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-Дихлорэтан (нижнюю), переносят в другую делительную воронку, добавляют 20 см³ дистиллированной воды и перемешивают 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 К₃, в 1 см³ которого содержится 5 мкг витамина К₃.

6.2.4 Построение градуированного графика

В десять мерных колб вместимостью по 25 см³ приливают стандартный раствор витамина К₃ (см. 6.2.3) в объемах, указанных в таблице 2.

Т а б л и ц а 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 десяти колб приливают по 7,5 см³ 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 см³ смеси этилового спирта и водного аммиака 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 К₃ в мкг/25 см³ раствора.

6.2.5 Приготовление контрольного раствора

5 см³ 1,2-Дихлорэтана отбирают в мерную колбу вместимостью 25 см³, приливают 7,5 см³ 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 см³, приливают 100 см³ 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 см³ фильтрата, в зависимости от предполагаемого содержания витамина К₃ в испытуемом образце премикса, в делительную воронку вместимостью 250 см³, приливают 50 см³ 1,2-Дихлорэтана и 20 см³ 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 см³ дистиллированной воды и перемешивают 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 см³ 1,2-Дихлорэтанового экстракта испытуемых проб отбирают в мерную колбу вместимостью 25 см³, приливают 7,5 см³ 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 см³ смеси этилового спирта и водного аммиака 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).

7 Обработка результатов анализа

7.1 Содержание витамина К₃ в премиксе X, г/т, вычисляют по формуле

$$X = \frac{cvv_2 \cdot 10^6}{mv_3 \cdot 10^6}, \quad (1)$$

где с — масса витамина К₃, найденная по градуировочному графику, мкг;

v — объем спиртового экстракта, см³;

v₂ — объем 1,2-Дихлорэтана, взятый для экстракции, см³;

10⁶ — коэффициент перевода микрограмм в граммы;

m — масса навески премикса, г;

v₁ — объем фильтрата спиртового экстракта, взятый для экстрагирования 1,2-Дихлорэтаном, см³;

v₃ — объем 1,2-Дихлорэтанового экстракта, взятый для окрашивания, см³;

10⁶ — 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 $|X_1 - X_2| \leq 0,01r\bar{X}$ (X_1, X_2, \bar{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 ГОСТ Р ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

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

Т а б л и ц а 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

$$\Delta = 0,01\delta\bar{X}, \quad (4)$$

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

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

Библиография

- [1] ТУ 6-09-1678—86 Фильтры обеззоленные («белая, красная, синяя ленты»)
 [2] ТУ 6-09-2394—77 (2,4-Динитрофенил)-гидразин

Ключевые слова: премиксы, витамин К₃, метод, оптическая плотность, спектрофотометр, фотоэлектроколориметр

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

Сдано в набор 24.12.2008. Подписано в печать 16.02.2009. Формат 60 × 84¹/₈. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,60. Тираж 223 экз. Зак. 82.

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.