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 $К_3$

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

## Предисловие

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

**Сведения о стандарте**

1 ПОДГОТОВЛЕН 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 от 23—24 мая 2012 г. № 41)

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 | Азстандарт |
| Армения | AM | Минэкономики Республики Армения |
| Киргизия | KG | Кыргызстандарт |
| Россия | 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

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2020 г.

* Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 сентября 2012 г. № 446-ст ГОСТ Р 53027—2008 отменен с 1 июля 2013 г.

*Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.*

*В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»*

© Стандартинформ, оформление, 2012, 2020



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

**Поправка к ГОСТ 31486—2012 Премиксы. Метод определения содержания витамина $К_3$**

| В каком месте | Напечатано | Должно быть | | |
|---|---|---|---|---|
| Предисловие. Таблица согласования | — | Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |

(ИУС № 6 2023 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

# ПРЕМИКСЫ

## Метод определения содержания витамина $К_3$

Premixes.
Method for determination of vitamin $К_3$

**Дата введения — 2013—07—01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на премиксы и устанавливает фотометрический метод определения витамина $К_3$.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

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

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

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

ГОСТ 83 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 1942 1,2-Дихлорэтан технический. Технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3760 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13496.0 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 24104 Весы лабораторные. Общие технические требования[1)]

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

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

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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандарти-

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

**Издание официальное**

зации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

## 3 Диапазоны измерений содержания витамина $К_3$ и метрологические характеристики метода

Диапазоны измерений содержания витамина $К_3$ 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) $\sigma_r$, % | Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратичное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R$, % | 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 $К_3$

Сущность метода заключается в извлечении витамина $К_3$ 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 ± 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 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 | 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 $К_3$ в 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 $К_3$ 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 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 $К_3$ в премиксе $X$, г/т, вычисляют по формуле

$$X = \frac{cvv_2 \cdot 10^6}{mv_1v_3 \cdot 10^6}, \quad (1)$$

где $c$ — масса витамина $К_3$, 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 $|X_1 — X_2| \le 0{,}01r\overline{X}_1$ ($X_1$, $X_2$, $\overline{X}$ — результат 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 $\delta$ (см. таблицу 1) рассчитывают абсолютную погрешность по формуле

$$\Delta = 0{,}01\delta\overline{X}, \quad (2)$$

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое 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 $\Delta_л \le \Delta$.

## 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

Ключевые слова: премиксы, витамин $К_3$, метод, оптическая плотность, спектрофотометр, фотоэлектроколориметр

Редактор переиздания *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 28.04.2020. Подписано в печать 01.06.2020. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,18.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

**Поправка к ГОСТ 31486—2012 Премиксы. Метод определения содержания витамина $К_3$**

| В каком месте | Напечатано | Должно быть | | |
|---|---|---|---|---|
| Предисловие. Таблица согласования | — | Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |

(ИУС № 6 2023 г.)

gost.e-ecolog.ru