ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 57124— 2016

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли холина хлорида методом капиллярного электрофореза

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП»), Обществом с ограниченной ответственностью «ЛЮМЭКС-МАРКЕТИНГ» (ООО «ЛЮМЭКС-МАРКЕТИНГ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 004 «Комбикорма, белково-витаминно-минеральные концентраты, премиксы»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 7 октября 2016 г. № 1329-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Февраль 2020 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2016, 2020

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Сущность метода . . . 2
4 Требования безопасности . . . 2
5 Требования к проведению испытаний . . . 2
5.1 Условия проведения испытаний . . . 2
5.2 Требования к квалификации оператора . . . 3
6 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы . . . 3
6.1 Средства измерений . . . 3
6.2 Вспомогательные устройства и материалы . . . 3
6.3 Реактивы . . . 3
7 Отбор проб . . . 4
8 Подготовка к проведению испытаний . . . 4
8.1 Подготовка проб . . . 4
8.2 Подготовка лабораторной посуды . . . 4
8.3 Подготовка капилляра к работе . . . 4
8.4 Приготовление растворов . . . 4
8.5 Приготовление градуировочных и контрольного растворов . . . 5
8.6 Градуировка прибора и контроль стабильности градуировочной характеристики . . . 7
9 Проведение испытаний . . . 8
9.1 Приготовление анализируемого раствора . . . 8
9.2 Регистрация и обработка электрофореграмм . . . 8
10 Обработка результатов измерений . . . 9
11 Контроль точности результатов испытаний . . . 9
Приложение А (справочное) Примеры электрофореграмм . . . 11

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли холина хлорида методом капиллярного электрофореза

Feedstuffs, compound feeds, feed raw materials.
Determination of mass fraction of choline chloride by capillary electrophoresis

Дата введения — 2017—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на корма, комбикорма, кормовые добавки, премиксы и комбикормовое сырье и устанавливает метод определения массовой доли свободных форм холина хлорида с использованием капиллярного электрофореза в диапазоне измерений от 0,01 % до 100 %.

Метод не применим для определения связанных форм холина хлорида.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

ГОСТ 12.2.007.0 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

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

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4461 Реактивы. Кислота азотная. Технические условия

ГОСТ 5817 Реактивы. Кислота винная. Технические условия

ГОСТ ISO 6498 Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 16317 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

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

ГОСТ 28311 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 28498 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

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

Издание официальное

ГОСТ ISO 7886-1 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

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

ГОСТ Р 53228 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р ИСО 5725-1 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-2 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р ИСО 6497 Корма для животных. Отбор проб[1)]

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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Сущность метода заключается в извлечении холина хлорида из пробы дистиллированной водой, дальнейшем электрофоретическом разделении компонентов экстракта с последующей регистрацией разницы оптического поглощения электролитом и холином хлоридом в ультрафиолетовой области спектра и вычислением его массовой доли.

4 Требования безопасности

4.1 При выполнении испытаний необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроприборами по ГОСТ 12.2.007.0 и ГОСТ Р 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на используемые приборы.

4.2 Работа с химическими реактивами должна проводиться в вытяжном шкафу.

4.3 Помещение должно быть оснащено вентиляционными системами по ГОСТ 12.4.021, средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009 и соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004.

4.4 Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

5 Требования к проведению испытаний

5.1 Условия проведения испытаний

При подготовке и проведении испытаний должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды ..... от 15 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха ..... не более 80 %;
- атмосферное давление ..... от 84,0 до 106,7 кПа;
- напряжение в сети ..... от 198 до 242 В.

[1)] Действует ГОСТ ISO 6497—2014.

5.2 Требования к квалификации оператора

К выполнению испытаний и обработке их результатов допускают специалиста, имеющего высшее или среднее специальное образование и опыт работы в химической лаборатории, прошедшего соответствующий инструктаж, освоившего метод в процессе обучения и уложившегося в нормативы оперативного контроля при выполнении процедур контроля точности испытаний.

6 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

6.1 Средства измерений

6.1.1 Система капиллярного электрофореза (далее — прибор) с жидкостным охлаждением капилляра, источником высокого напряжения положительной полярности, оснащенная кварцевым капилляром с общей длиной не менее 60 см и внутренним диаметром от 50 до 75 мкм, спектрофотометрическим детектором, позволяющим проводить измерения при длине волны от 250 до 280 нм, и компьютером с программным обеспечением для регистрации и обработки электрофореграмм.

6.1.2 Весы неавтоматического действия по ГОСТ Р 53228 с пределами допускаемой погрешности ± 0,001 г.

Весы утвержденного типа с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,2 мг и не более ± 0,02 мг.

6.1.3 Колбы мерные 2(2а)—25(100)—2 по ГОСТ 1770.

6.1.4 Цилиндры мерные 1(2, 3, 4)—100—2 по ГОСТ 1770.

6.1.5 Пипетки градуированные 1(2, 3, 5)—1(1а, 2, 2а)—2—10 по ГОСТ 29227—91.

6.1.6 Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема 10—100 мм^3, 100—1000 мм^3, 1000—5000 мм^3 с метрологическими характеристиками по ГОСТ 28311.

Примечание — Допускается использование других средств измерений, имеющих аналогичные или лучшие метрологические характеристики.

6.2 Вспомогательные устройства и материалы

6.2.1 Дистиллятор, или бидистиллятор, или аппарат для перегонки воды (кварцевый или стеклянный).

6.2.2 Центрифуга лабораторная с частотой вращения не менее 5000 об/мин.

6.2.3 Устройство для перемешивания проб.

6.2.4 Холодильник бытовой по ГОСТ 16317.

6.2.5 Стаканы В-1(2)—50 (250) ТХС по ГОСТ 25336.

6.2.6 Виалы с завинчивающими крышками для хранения растворов вместимостью 12—15 см^3.

6.2.7 Пробирки однократного применения (типа Эппендорф) вместимостью 1,5 см^3.

6.2.8 Шприц медицинский одноразовый вместимостью 10 (20) см^3 по ГОСТ ISO 7886-1.

6.2.9 Оправа для фильтра и фильтры целлюлозно-ацетатные с размером пор 0,2 мкм, диаметром 25 мм.

6.2.10 Полиэтиленовые емкости с завинчивающими крышками или стеклянные емкости с притертыми крышками для хранения растворов вместимостью 50, 100, 250 см^3.

6.2.11 Эксикатор по ГОСТ 25336.

6.2.12 Баня водяная.

6.2.13 Термометр по ГОСТ 28498.

Примечание — Допускается использование вспомогательного оборудования с аналогичными техническими характеристиками и материалов по качеству не хуже указанных.

6.3 Реактивы

6.3.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

6.3.2 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.

6.3.3 Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч.

6.3.4 Кислота серная по ГОСТ 4204, х. ч. или азотная по ГОСТ 4461, х. ч.

6.3.5 Кислота винная по ГОСТ 5817, ч. д. а.

6.3.6 Бензимидазол, ч., с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

6.3.7 Холина хлорид с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

Примечание — Допускается использование реактивов аналогичной или более высокой квалификации.

7 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ Р ИСО 6497 или в соответствии с другими нормативными документами на исследуемые продукты.

8 Подготовка к проведению испытаний

8.1 Подготовка проб

Подготовка проб к испытанию — по ГОСТ ISO 6498.

8.2 Подготовка лабораторной посуды

8.2.1 Лабораторную посуду моют только серной (см. 6.3.4) или азотной кислотой (см. 6.3.4) без применения других моющих средств, тщательно промывают водопроводной и многократно ополаскивают дистиллированной водой (см. 6.3.1). Категорически запрещается использовать для мытья посуды хромовую смесь.

8.2.2 Все наконечники и пробирки типа Эппендорф используются однократно. Запрещается погружать наконечник во весь объем раствора (раствор из колбы наливают в стаканчик или одноразовую пробирку и из него отбирают аликвотную порцию).

8.3 Подготовка капилляра к работе

8.3.1 Подготовка нового капилляра

Подготовку нового капилляра к работе проводят в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации прибора.

8.3.2 Ежедневная подготовка капилляра к работе

Перед проведением измерений капилляр последовательно промывают 3 мин дистиллированной водой (см. 6.3.1), 5 мин раствором гидроокиси натрия (см. 8.4.2), 5 мин дистиллированной водой, 2 мин раствором винной кислоты (см. 8.4.4), 5 мин дистиллированной водой.

Для проверки состояния капилляра контрольный раствор (см. 8.5.5) дважды анализируют в условиях проведения анализа.

8.3.3 Подготовка капилляра между измерениями и в конце рабочего дня

После проведения каждого измерения капилляр промывают 1 мин дистиллированной водой (см. 6.3.1), 1 мин раствором гидроокиси натрия (см. 8.4.2), 1 мин дистиллированной водой, 1 мин раствором винной кислоты (см. 8.4.4), 1 мин дистиллированной водой.

Непосредственно перед проведением измерений капилляр промывают фоновым электролитом (см. 8.4.5) в течение 3 мин.

При работе с анализируемыми растворами проб на электрофореграмме могут наблюдаться дрейф базовой линии и появление ступеней, что связано с возможным влиянием матричных компонентов или примесей. В этом случае рекомендуется:

- увеличить продолжительность промывания капилляра фоновым электролитом между измерениями;
- заменить фоновый электролит в пробирках на входе и на выходе другими порциями;
- промывать капилляр 1 мин дистиллированной водой, 5 мин раствором гидроокиси натрия (см. 8.4.2), 5 мин дистиллированной водой.

После завершения измерений капилляр промывают 5 мин дистиллированной водой, 5 мин раствором соляной кислоты (см. 8.4.3), 5 мин дистиллированной водой, 5 мин раствором гидроокиси натрия (см. 8.4.2), 5 мин дистиллированной водой и оставляют концы капилляра погруженными в пробирки с дистиллированной водой.

Примечание — Допускается изменять процедуры промывки капилляра. Выбирают оптимальную по времени и по промывочным растворам процедуру подготовки капилляра между измерениями и строго ее соблюдают. Невыполнение этого условия приводит к ухудшению стабильности времени миграции определяемых компонентов.

8.4 Приготовление растворов

8.4.1 Все растворы, указанные в 8.4 и 8.5, готовят на свежей дистиллированной воде (см. 6.3.1).

8.4.2 Приготовление раствора гидроокиси натрия для промывки капилляра

В стакан вместимостью 250 $см^3$ помещают 2 г гидроокиси натрия (см. 6.3.2) и добавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды.

Молярная концентрация приготовленного раствора приблизительно равна 0,5 моль/дм^3.

Срок хранения раствора при комнатной температуре в полиэтиленовой емкости — не более 6 мес.

8.4.3 Приготовление раствора соляной кислоты для промывки капилляра

В стакан вместимостью 250 см^3 помещают 100 см^3 дистиллированной воды, затем приливают 8 см^3 соляной кислоты (см. 6.3.3).

Молярная концентрация приготовленного раствора приблизительно равна 1 моль/дм^3.

Срок хранения раствора при комнатной температуре не ограничен.

8.4.4 Приготовление раствора винной кислоты для промывки капилляра

В стакан вместимостью 50 см^3 помещают 0,15 г винной кислоты (см. 6.3.5) и растворяют в 10 см^3 дистиллированной воды.

Молярная концентрация приготовленного раствора приблизительно равна 0,1 моль/дм^3.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 7 сут.

8.4.5 Приготовление фонового электролита

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,236 ± 0,002) г бензимидазола (см. 6.3.6) и (0,075 ± 0,001) г винной кислоты (см. 6.3.5), добавляют приблизительно 50 см^3 дистиллированной воды, нагревают на кипящей водяной бане до полного растворения. Раствор охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Молярные концентрации бензимидазола и винной кислоты в фоновом электролите составляют соответственно 20 ммоль/дм^3 и 5 ммоль/дм^3.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 6 мес.

8.5 Приготовление градуировочных и контрольного растворов

8.5.1 Приготовление основного раствора холина хлорида

Исходный реактив холина хлорида является крайне гигроскопичным веществом. Если после вскрытия заводской упаковки препарат хранили, то перед взятием навески рекомендуется высушить препарат в эксикаторе под вакуумом до постоянной массы.

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (100,0 ± 0,5) мг холина хлорида (см. 6.3.7), растворяют его в 40—50 см^3 дистиллированной воды, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Номинальное значение массовой концентрации холина хлорида в основном растворе — 1000 мг/дм^3.

Фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в основном растворе C_0, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C_0 = \frac{m \cdot w}{V_0 \cdot 100}, \quad (1)$$

где m — масса навески холина хлорида, мг;

w — массовая доля холина хлорида в исходном препарате, использованном для приготовления запасного раствора (указано в паспорте), %;

V_0 — объем основного раствора, дм^3 (0,10 дм^3);

100 — коэффициент для перевода массовой доли из процентов в безразмерную величину.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 3 мес.

8.5.2 Приготовление градуировочного раствора № 1

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 2,5 см^3 основного раствора холина хлорида (см. 8.5.1), доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Номинальное значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 1 — 100 мг/дм^3.

Фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 1 C_1, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C_1 = \frac{C_0 \cdot V_{0,1}}{V_1}, \quad (2)$$

где C_0 — фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в основном растворе, вычисленное по формуле (1), мг/дм^3;

$V_{D,1}$ — объем основного раствора холина хлорида, использованного для приготовления градуировочного раствора № 1, см^3 (2,5 см^3);

V_1 — объем приготовленного градуировочного раствора № 1, см^3 (25 см^3).

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 недели.

8.5.3 Приготовление градуировочного раствора № 2

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 2,5 см^3 градуировочного раствора № 1 (см. 8.5.2), доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Номинальное значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 2 — 10 мг/дм^3.

Фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 2 C_2, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C_2 = \frac{C_1 \cdot V_{1,2}}{V_2}, \quad (3)$$

где C_1 — фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 1, вычисленное по формуле (2), мг/дм^3;

$V_{1,2}$ — объем градуировочного раствора № 1, использованного для приготовления градуировочного раствора № 2, см^3 (2,5 см^3);

V_2 — объем приготовленного градуировочного раствора № 2, см^3 (25 см^3).

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 недели.

8.5.4 Приготовление градуировочного раствора № 3

В виалу вместимостью 12—15 см^3 помещают 1,0 см^3 градуировочного раствора № 2 (см. 8.5.3) и 4,0 см^3 дистиллированной воды и тщательно перемешивают.

Номинальное значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 3 — 2 мг/дм^3.

Фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 3 C_3, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C_3 = \frac{C_2 \cdot V_{2,3}}{V_{2,3} + V_в}, \quad (4)$$

где C_2 — фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 2, вычисленное по формуле (3), мг/дм^3;

$V_{2,3}$ — объем градуировочного раствора № 2, использованного для приготовления градуировочного раствора № 3, см^3 (1,0 см^3);

$V_в$ — объем дистиллированной воды, см^3 (4,0 см^3).

Градуировочный раствор № 3 используется в день приготовления.

8.5.5 Приготовление контрольного раствора

В виалу вместимостью 12—15 см^3 помещают 1,0 см^3 градуировочного раствора № 1 (см. 8.5.2) и 4,0 см^3 дистиллированной воды и тщательно перемешивают.

Номинальное значение массовой концентрации холина хлорида в контрольном растворе — 20 мг/дм^3.

Фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в контрольном растворе $C_к$, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C_к = \frac{C_1 \cdot V_{1,к}}{V_{1,к} + V_в}, \quad (5)$$

где C_1 — фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в градуировочном растворе № 1, вычисленное по формуле (2), мг/дм^3;

$V_{1,к}$ — объем градуировочного раствора № 1, использованного для приготовления контрольного раствора, см^3 (1,0 см^3);

$V_в$ — объем дистиллированной воды, см^3 (4,0 см^3).

Контрольный раствор используется в день приготовления.

Контрольный раствор используется для проверки работоспособности прибора и для контроля стабильности градуировочной характеристики (см. 8.6).

8.6 Градуировка прибора и контроль стабильности градуировочной характеристики

8.6.1 Градуировка прибора

Перед измерением все растворы центрифугируют в течение 5 мин со скоростью вращения 5000 об/мин.

Непосредственно перед проведением измерений готовят капилляр в соответствии с 8.3.2. Между анализами капилляр промывают по 8.3.3.

Через 5—7 вводов раствора пробирки на входе и выходе необходимо заново заполнять другими порциями фонового электролита.

Для проведения градуировки прибора регистрируют электрофореграммы градуировочных растворов, приготовленных по 8.5.2—8.5.4, в условиях, указанных в таблице 1. При наличии технической возможности изменения длины волны детектирования ее выбирают в области 250—280 нм таким образом, чтобы высота пика холина хлорида в градуировочных растворах была максимальной.

Выбранные параметры анализа фиксируют и используют для записи электрофореграмм градуировочных, контрольных растворов и анализируемых растворов проб.

Таблица 1 — Условия проведения измерений

Наименование параметра	Значение параметра
Длина волны, нм	250—280 (254*)
Температура, °С	40
Ввод пробы гидродинамический, мбар · с	От 150 до 300
Напряжение, кВ	От 15 до 25
* При использовании детектора, работающего на постоянной длине волны 254 нм.	

Диапазон линейности градуировочной характеристики для холина хлорида составляет от 1,0 до 100 мг/дм^3.

Примечание — Допускается использование иных по количественному составу градуировочных и контрольных растворов, содержащих холина хлорид в концентрациях, соответствующих диапазону линейности градуировочной характеристики.

Пример электрофореграммы градуировочного раствора приведен в приложении А.

На полученной электрофореграмме проверяют правильность автоматической разметки пиков и, если необходимо, корректируют ее.

Далее обрабатывают электрофореграмму согласно процедуре градуировки в соответствии с руководством пользователя программного обеспечения, используемого для сбора и обработки данных, и устанавливают градуировочную характеристику в виде зависимости площади пика от массовой концентрации холина хлорида.

Градуировочная характеристика признается приемлемой при выполнении следующих условий:

- значение коэффициента корреляции, рассчитанное программой, более 0,99;
- отклонение в каждой точке градуировочной характеристики не превышает 5 %.

Допускается использовать дополнительные критерии приемлемости градуировочных характеристик в соответствии с рекомендациями разработчиков программного обеспечения.

При несоблюдении указанных требований находят причины несоответствий и устраняют их, после чего градуировку прибора проводят повторно.

При замене капилляра после проведения ремонта прибора, изменении одного из параметров проведения измерений (см. таблицу 1), а также получении неудовлетворительных результатов контроля стабильности градуировочной характеристики (см. 8.6.2) градуировку прибора проводят заново.

8.6.2 Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводится в начале рабочего дня перед измерениями.

Для контроля стабильности градуировочной характеристики используют контрольный раствор (см. 8.5.5), который анализируют не менее двух раз в условиях, приведенных в таблице 1.

На полученных электрофореграммах проводят автоматическую идентификацию компонентов, установив ширину окна идентификации 5 %. При необходимости вносят программную коррекцию номера пика или времени миграции.

При помощи программного обеспечения для каждого ввода контрольного раствора вычисляют массовую концентрацию холина хлорида ($C_{к,1}$, $C_{к,2}$), используя действующую на данный момент градуировочную характеристику, установленную по 8.6.2.

Градуировочная характеристика признается стабильной, если для каждого ввода (i = 1, 2) контрольного раствора выполняется неравенство

$$|C_{к,i} - C_к| \le 0{,}01 \cdot G \cdot C_к, \quad (6)$$

где $C_{к,i}$ — массовая концентрация холина хлорида в контрольном растворе, мг/дм^3;

$C_к$ — фактическое значение массовой концентрации холина хлорида в контрольном растворе, мг/дм^3;

0,01 — коэффициент пересчета;

G — норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, %.

Во всем диапазоне градуировочной характеристики значение G принимают равным 7 %.

При невыполнении условия по формуле (6) капилляр промывают по 8.3.3, заново анализируют контрольный раствор еще два раза. При повторных отклонениях, превышающих указанные нормативы, прибор градуируют заново.

9 Проведение испытаний

9.1 Приготовление анализируемого раствора

Для каждой пробы проводят два параллельных определения в условиях повторяемости.

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают навеску массой, указанной в таблице 2. Добавляют 50 см^3 дистиллированной воды, нагретой от 70 °С до 80 °С, и встряхивают с помощью устройства для перемешивания проб в течение 15 мин. После охлаждения объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Таблица 2 — Рекомендуемые навески и коэффициенты разбавления проб

Объект анализа	Масса навески, г	Коэффициент разбавления (Q_1)
Кормовые добавки	1,00 ± 0,02	100
Премиксы	1,00 ± 0,02	10
Корма, белковое сырье (шрот, жмых, рыбная мука и т. д.)	1,00 ± 0,02	1
Зерновое сырье (пшеница, кукуруза и т. д.)	5,00 ± 0,10	1

Полученный раствор центрифугируют в пробирках типа Эппендорф в течение 5 мин со скоростью вращения 5000 об/мин или фильтруют через одноразовый мембранный фильтр, отбрасывая первый 1 см^3 фильтрата. Фильтрат (центрифугат) переносят в виалу. Объем полученного фильтрата (центрифугата) должен составлять не менее 1,5 см^3.

Полученные растворы анализируют в день приготовления. Не допускается хранение водной вытяжки над осадком.

В зависимости от объекта анализа полученный раствор разбавляют дистиллированной водой согласно рекомендациям, приведенным в таблице 2, и центрифугируют в течение 5 мин со скоростью вращения 5000 об/мин. В сухую пробирку типа Эппендорф помещают от 0,5 до 1,0 см^3 анализируемого раствора пробы для дальнейшего анализа.

9.2 Регистрация и обработка электрофореграмм

Для каждого анализируемого раствора регистрируют по одной электрофореграмме в условиях, указанных в таблице 1.

Пример электрофореграммы анализируемого раствора пробы комбикорма приведен в приложении А.

На полученных электрофореграммах проверяют правильность автоматической разметки пиков и при необходимости корректируют ее. Используя программное обеспечение, проводят идентификацию холина хлорида по совпадению времени миграции в анализируемом и контрольном растворах при ширине окна идентификации не более 5 %.

Если холина хлорид обнаружен, то определяют его массовую концентрацию ($C_{изм}$, мг/дм^3) с использованием градуировочной характеристики, установленной по 8.6.2.

Если измеренное значение массовой концентрации холина хлорида превышает верхнюю границу диапазона градуировочной характеристики, то анализируемый раствор разбавляют дистиллированной водой так, чтобы значение массовой концентрации холина хлорида в полученном растворе находилось в середине диапазона измеряемых значений. Коэффициент дополнительного разбавления Q_2 вычисляют по формуле

$$Q_2 = \frac{V_{об}}{V_в}, \quad (7)$$

где $V_{об}$ — общий объем разбавленного раствора, см^3;

$V_в$ — объем аликвоты раствора, подготовленного по 9.1, см^3.

Примечание — На стадии освоения методики для идентификации холина хлорида рекомендуется использовать метод добавок. В анализируемый раствор пробы вводят добавку холина хлорида таким образом, чтобы массовая концентрация добавки составила от 50 % до 150 % от предварительно измеренной. Увеличение высоты соответствующего пика подтверждает правильность идентификации. Аналогичную процедуру рекомендуется проводить при анализе проб, идентификация пиков которых вызывает сомнения.

10 Обработка результатов измерений

10.1 Массовую долю холина хлорида в пробе X, %, рассчитывают по формуле

$$X = \frac{V \cdot C_{изм} \cdot Q_1 \cdot Q_2}{m \cdot 10000}, \quad (8)$$

где V — объем раствора анализируемой пробы по 9.1, см^3 (100 см^3);

$C_{изм}$ — измеренное значение массовой концентрации холина хлорида в анализируемом растворе, мг/дм^3;

Q_1 — коэффициент разбавления (см. 9.1);

Q_2 — коэффициент дополнительного разбавления (см. 9.2);

m — масса навески, г;

10000 — коэффициент согласования размерности единиц измерения объема, массы и массовой доли.

10.2 За результат определения массовой доли холина хлорида в пробе принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, для которых выполняется условие приемлемости (см. 11).

Результат определения массовой доли холина хлорида в пробе представляют в виде $\overline{X} \pm U$, %, при этом U — значение показателя точности измерений (расширенная неопределенность с коэффициентом охвата 2), которое вычисляют по формуле

$$U = 0{,}01 \cdot \overline{X} U_{отн}, \quad (9)$$

где 0,01 — коэффициент пересчета;

$\overline{X}$ — среднеарифметическое значение массовой доли холина хлорида для двух параллельных определений (X_1, X_2), %;

$U_{отн}$ — относительная расширенная неопределенность с коэффициентом охвата 2, составляет 15 %.

Числовое значение результата испытаний должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение расширенной неопределенности «U», рассчитанное по формуле (8), выраженное в процентах и содержащее не более двух значащих цифр.

11 Контроль точности результатов испытаний

Расхождение между результатами двух параллельных определений, X_1, %, и X_2, %, полученными в одной лаборатории в условиях повторяемости по ГОСТ Р ИСО 5725-1, должно соответствовать условию

$$|X_1 - X_2| \le 0{,}01 \cdot \overline{X} \cdot r_{отн}, \quad (10)$$

где 0,01 — коэффициент пересчета;

$\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов параллельных определений, %;

$r_{отн}$ — относительное значение предела повторяемости, %, составляет 14 % для всего диапазона измерений.

Если это условие не соблюдается, то используют методы проверки приемлемости результатов параллельных испытаний и установления окончательного результата согласно ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (раздел 5).

Расхождение между результатами измерений, полученными в двух лабораториях, $\overline{X}_{1лаб}$, %, и $\overline{X}_{2лаб}$, %, на идентичных пробах разными операторами с использованием различных экземпляров оборудования, должно соответствовать условию

$$\left|\overline{X}_{1лаб} - \overline{X}_{2лаб}\right| \le 0{,}01 \cdot \overline{X}_{лаб} \cdot CD_{0{,}95}, \qquad (11)$$

где 0,01 — коэффициент пересчета;

$\overline{X}_{лаб}$ — среднеарифметическое значение результатов измерений в двух лабораториях, %;

$CD_{0,95}$ — критическая разность, %.

Примечание — Численные значения критической разности определяются по результатам проведения межлабораторных сравнительных испытаний в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-2. До их проведения при сравнении результатов, полученных в двух лабораториях, в качестве критерия их приемлемости (допускаемого относительного расхождения D) рекомендуется использовать величину $1{,}4 \cdot ЧU$, где U — значение относительной расширенной неопределенности при коэффициенте охвата $k = 2$ (см. 10.2), соответствующее среднеарифметическому значению результатов, полученных в двух лабораториях.

При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их среднеарифметическое значение. Если это условие не соблюдается, могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (раздел 5).

Приложение А
(справочное)

Примеры электрофореграмм

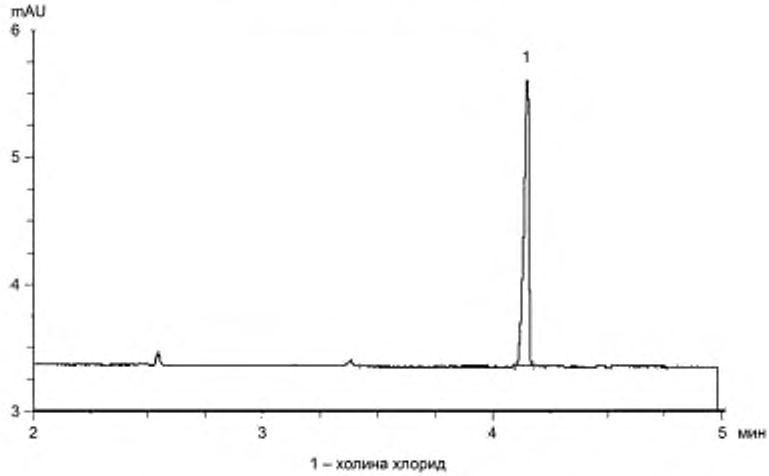


Рисунок А.1 — Электрофореграмма градуировочного раствора № 2

Электрофореграмма градуировочного раствора получена в условиях, приведенных в таблице А.1.

Таблица А.1 — Условия проведения измерений

Наименование параметра	Значение параметра
Длина волны, нм	267
Температура, °С	40
Ввод пробы гидродинамический, мбар · с	150
Напряжение, кВ	20

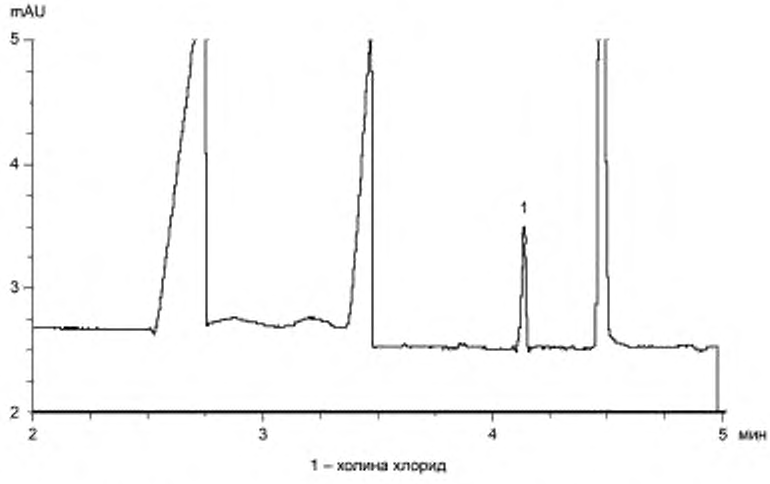


Рисунок А.2 — Электрофореграмма анализируемого раствора пробы комбикорма

Электрофореграмма анализируемого раствора пробы комбикорма получена в условиях, приведенных в таблице А.1.

УДК 636.085.3:006.354 ОКС 65.120

Ключевые слова: корм, комбикорм, кормовая добавка, сырье, холина хлорид, водный экстракт, капиллярный электрофорез, электрофореграмма

Редактор переиздания *Н.Е. Рагузина*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.М. Поляченко*
Компьютерная верстка *Г.В. Струковой*

Сдано в набор 14.02.2020. Подписано в печать 14.04.2020. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

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 stinfo.ru

gost.e-ecolog.ru