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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34439— 2018

СРЕДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ, КОРМА, КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ

Определение содержания антиоксидантов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 июля 2018 г. № 110-П)

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
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 августа 2018 г. № 526-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34439—2018 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 сентября 2019 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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 (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2018

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Сущность метода . . . 2
4 Требования безопасности и условия выполнения измерений . . . 2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы . . . 2
6 Подготовка к проведению измерений . . . 3
7 Отбор и подготовка проб . . . 4
8 Проведение измерений методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием . . . 5
9 Обработка результатов измерений . . . 6
10 Метрологические характеристики . . . 6
11 Оформление результатов измерений . . . 7
12 Контроль стабильности результатов измерений . . . 7
Приложение А (справочное) Времена удерживания антиоксидантов и примеры хроматограмм . . . 8

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

СРЕДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ, КОРМА, КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ

Определение содержания антиоксидантов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием

Veterinary preparation, feed, feed additive.
Determination of antioxidants by high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection

Дата введения — 2019—09—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на лекарственные средства для ветеринарного применения, корма, комбикорма, кормовые добавки и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее — ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием для определения содержания (массовой доли) антиоксидантов: бутилгидроксианизола (BHA), бутилгидрокситолуола (BHT), этоксиквина (EQ), пропилгаллата (PG) (в том числе при совместном присутствии) в диапазоне измерений от 0,01 до 50,00 %.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

ГОСТ 12.1.019—2017 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты*

ГОСТ 12.1.030—81 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Защитное заземление, зануление

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4220—75 Реактивы. Калий двухромовокислый. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-6—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике**

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 13496.0—2016 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

---

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

ГОСТ 13979.0—86 Жмыхи, шроты и горчичный порошок. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 31929—2013 Средства лекарственные для ветеринарного применения. Правила приемки, методы отбора проб

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 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 Сущность метода

Метод основан на экстракционном извлечении антиоксидантов из анализируемой пробы ацетонитрилом с последующим количественным определением их методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием в ультрафиолетовой области спектра. Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки.

4 Требования безопасности и условия выполнения измерений

4.1 Применяемые в работе реактивы относятся к веществам 1-го и 2-го классов опасности по ГОСТ 12.1.007, при работе с ними следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

4.2 Помещения, в которых проводят анализ и подготовку проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией.

4.3 Приготовление градуировочных растворов проводят в вытяжном шкафу.

4.4 При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила по электробезопасности по ГОСТ 12.1.019, ГОСТ 12.1.030.

4.5 К выполнению измерений методом ВЭЖХ допускают специалистов, имеющих высшее или среднее специальное образование, прошедших соответствующий инструктаж, владеющих техникой ВЭЖХ и изучивших инструкции по эксплуатации применяемого оборудования.

4.6 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха ..... от 15 до 30 °С;
- относительная влажность воздуха ..... от 20 до 80 %.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы

5.1 Для определения содержания антиоксидантов применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и посуду:

- весы с пределами допускаемой погрешности не более ± 0,1 мг;
- хроматограф высокоэффективный жидкостный со спектрофотометрическим детектором УФ-диапазона (рабочий диапазон длин волн поглощения от 190 до 360 нм), термостатом хроматографической колонки, обеспечивающим температуру нагрева до (30 ± 1) °С;
- колонку хроматографическую, заполненную обращенно-фазовым сорбентом С18 с размером частиц не более 5,0 мкм, длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, или колонку хроматографическую, заполненную обращенно-фазовым сорбентом С18 с размером частиц не более 4,0 мкм, длиной 150 мм и внутренним диаметром 3,9 мм, или колонку хроматографическую, заполненную обращенно-фазовым сорбентом С18 с размером частиц не более 5,0 мкм, длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,0 мм, или аналогичную;
- компьютер с установленным программным обеспечением для управления хроматографом и обработки результатов измерений;
- баню ультразвуковую с рабочей частотой не менее 20 Гц и объемом не менее 1 $дм^3$;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;

- мельницу лабораторную;
- систему получения деионизированной воды высокой чистоты с удельным сопротивлением 18,2 МОм·см при температуре 25 °С;
- холодильник бытовой с рабочим диапазоном температур от 2 до 8 °С;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения не менее 15 000 об/мин и диапазоном температур от 4 до 20 °С с адаптерами для микроцентрифужных пробирок вместимостью 1,5 $см^3$;
- шкаф сушильный с максимальной температурой нагрева не менее 200 °С и погрешностью поддержания заданной температуры ± 5 °С;
- виалы (флаконы) для автоматического устройства ввода проб вместимостью 2 $см^3$, с завинчивающимися крышками;
- пробирки микроцентрифужные полипропиленовые вместимостью 1,5 $см^3$;
- колбы 2—5(25, 50,1000)—2 по ГОСТ 1770;
- дозаторы одноканальные переменной вместимости 10—100, 20—200, 100—1000 $мм^3$ с допустимой относительной погрешностью дозирования по изооктану, гесану, дихлорметану, ундекану не более ± 2 %;
- ступку 3, пестик 2 по ГОСТ 9147;
- фильтры шприцевые с размером пор 0,2—0,45 мкм;
- шприцы одноразовые вместимостью 2,0 $см^3$;
- цилиндр 2—25—2 по ГОСТ 1770.

5.2 При определении содержания антиоксидантов применяют следующие реактивы:
- ацетонитрил для ВЭЖХ с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %;
- воду деионизированную для ВЭЖХ, полученную с использованием системы производства ультрачистой воды из дистиллированной воды по ГОСТ 6709;
- калий двухромовокислый по ГОСТ 4220, х. ч.;
- кислоту серную по ГОСТ 4204, х. ч.

5.3 При определении содержания антиоксидантов в качестве образцов сравнения (стандартных образцов) применяют соединения:
- бутилгидроксианизол с массовой долей основного вещества не менее 98,0 %;
- бутилгидрокситолуол с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %;
- пропилгаллат с массовой долей основного вещества не менее 98,0 %;
- этоксиквин с массовой долей основного вещества не менее 90,9 %.

5.4 Допускается применение других средств измерений, не уступающих вышеуказанным по метрологическим характеристикам, обеспечивающим необходимую точность измерения, вспомогательного оборудования — техническим характеристикам, а также посуды, реактивов и материалов по качеству не ниже вышеуказанных.

6 Подготовка к проведению измерений

6.1 Подготовка лабораторной посуды и реактивов

6.1.1 Мойку и сушку посуды проводят в отдельном помещении, оборудованном приточно-вытяжной вентиляцией. Для сушки лабораторной посуды и подготовки реактивов следует использовать отдельные сушильные шкафы.

6.1.2 Стеклянную посуду подвергают стандартной процедуре очистки лабораторной посуды с промывкой хромовой смесью (смесь серной кислоты с двухромовокислым калием). Затем несколько раз промывают водопроводной водой и ополаскивают дважды деионизированной водой.

6.1.3 Процедуру промывки растворителями следует проводить в вытяжном шкафу.

6.1.4 Каждую новую партию реактивов проверяют на отсутствие контаминации анализируемыми соединениями путем проведения холостого опыта в соответствии с процедурой измерения.

6.2 Приготовление растворов

6.2.1 Приготовление подвижной фазы А

Для приготовления подвижной фазы А в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ приливают 1000 $см^3$ деионизированной воды и 0,2 $см^3$ концентрированной серной кислоты, перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре от 15 до 30 °С — не более 1 мес.

6.2.2 Приготовление градуировочных растворов

6.2.2.1 Приготовление исходного стандартного раствора (раствор C_0) с массовой концентрацией антиоксидантов 1 мг/см^3

Для приготовления исходного стандартного раствора C_0 вычисляют необходимую массу *i*-го аналита m_i, мг, с учетом массовой доли основного вещества по формуле

$$m_i = \frac{50}{0,01P_i}, \quad (1)$$

где 50 — номинальное значение массы *i*-го аналита, мг;

0,01 — коэффициент пересчета, учитывающий переход массовой доли основного вещества из процентов в относительную величину;

P_i — массовая доля основного вещества в образце сравнения *i*-го аналита, %.

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят вычисленные массы исходных веществ (взвешивание проводят с погрешностью ± 0,1 мг). Приливают 25 см^3 ацетонитрила, перемешивают на ультразвуковой бане в течение 10 мин при комнатной температуре и после полного растворения сухого вещества доводят объем раствора ацетонитрилом до метки.

Срок хранения раствора при температуре от 2 до 8 °С — не более одного года.

Перед применением раствор выдерживают при комнатной температуре в темном месте не менее 30 мин.

6.2.2.2 Приготовление градуировочного раствора C_1 массовой концентрацией 0,5 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 2,5 см^3 исходного стандартного раствора C_0, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.3 Приготовление градуировочного раствора C_2 массовой концентрацией 0,2 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 1,0 см^3 исходного стандартного раствора C_0, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.4 Приготовление градуировочного раствора C_3 массовой концентрацией 0,1 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 0,5 см^3 исходного стандартного раствора C_0, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.5 Приготовление градуировочного раствора C_4 массовой концентрацией 0,05 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 0,5 см^3 градуировочного раствора C_1, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.6 Приготовление градуировочного раствора C_5 массовой концентрацией 0,02 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 0,5 см^3 градуировочного раствора C_2, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.7 Приготовление градуировочного раствора C_6 массовой концентрацией 0,01 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 0,5 см^3 градуировочного раствора C_3, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.8 Приготовление градуировочного раствора C_7 массовой концентрацией 0,005 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 0,5 см^3 градуировочного раствора C_4, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.9 Приготовление градуировочного раствора C_8 массовой концентрацией 0,002 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 5 см^3 вносят 0,5 см^3 градуировочного раствора C_5, доводят ацетонитрилом до метки и перемешивают.

6.2.2.10 Градуировочные растворы C_1—C_8 готовят в день применения.

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб

7.1.1 Отбор проб лекарственных средств — по ГОСТ 31929.

7.1.2 Отбор проб кормов, комбикормов, кормовых добавок, сырья для производства кормов и кормовых добавок — по ГОСТ 13496.0.

7.1.3 Отбор проб жмыхов и шротов — по ГОСТ 13979.0.

7.1.4 Пробы хранят согласно условиям хранения, установленным нормативными документами на указанную продукцию.

7.2 Подготовка проб

7.2.1 Пробы в форме таблеток или гранул растирают в ступке, корма и кормовые добавки измельчают на лабораторной мельнице, перемешивают. Пастообразные, порошкообразные и жидкие пробы тщательно перемешивают.

7.2.2 В мерной колбе вместимостью 25 $см^3$ взвешивают от 0,0500 до 2,5000 г измеряемой пробы (в зависимости от предполагаемого содержания антиоксиданта), приливают ацетонитрил до метки и помещают на 15 мин в ультразвуковую баню для экстракции. Экстракт переносят в микроцентрифужную пробирку и центрифугируют при 15 000 об/мин в течение 5 мин. 1,0 $см^3$ верхнего слоя фильтруют через шприцевой фильтр в виалу и используют для измерения методом ВЭЖХ.

8 Проведение измерений методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием

8.1 Условия хроматографического измерения

8.1.1 Жидкостный хроматограф включают в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают параметры рабочих режимов хроматографического разделения.

8.1.2 Например, для колонки диаметром 4,6 мм, длиной 150 мм, с обращенно-фазовым сорбентом С18 с размером частиц не более 5,0 мкм соблюдают следующие условия хроматографирования:

- температура колонки — 30 °С;
- скорость потока подвижной фазы — 0,5 $см^3$/мин;
- длина волны детектора:

а) 210 нм — при определении бутилгидроксианизола, бутилгидрокситолуола, этоксиквина с массовой долей антиоксидантов от 0,01 до 50,00 %,

б) 210 нм — при определении пропилгаллата с массовой долей антиоксиданта от 0,01 до 25,00 % и 260 нм — с массовой долей антиоксиданта свыше 25,00 до 50,00 %;

- номинальный объем дозирующей петли — 10 $мм^3$.

8.1.3 Разделение проводят в режиме градиентного элюирования (приготовление подвижной фазы А — по 6.2.1, в качестве подвижной фазы Б используют ацетонитрил) в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза Б, %
0,0	90	10
3,0	40	60
4,0	20	80
11,0	10	90
16,0	90	10

8.2 Градуировка хроматографа

8.2.1 Градуировочную характеристику, включающую взаимосвязь величины хроматографического сигнала и массовую концентрацию антиоксиданта в анализируемой пробе, устанавливают по методу абсолютной градуировки с использованием градуировочных растворов C_1—C_8 (см. 6.2.2.2—6.2.2.9). Градуировочные растворы фильтруют через шприцевые фильтры в виалы и используют для установления градуировочной характеристики.

8.2.2 Для установления градуировочной характеристики в инжектор хроматографа вводят по 0,01 $см^3$ не менее трех градуировочных растворов C_1—C_8 (см. 6.2.2.2—6.2.2.9), выбирая их так, чтобы

массовые концентрации каждого антиоксиданта в первом и последнем градуировочных растворах отличались между собой не более чем в десять раз.

8.2.3 С помощью компьютерной системы обработки данных для каждого аналита устанавливают линейную градуировочную характеристику как зависимость массовой концентрации от площади пика.

Расчеты коэффициентов градуировочной характеристики выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

8.2.4 Градуировочная зависимость считается приемлемой, если значение квадрата коэффициента корреляции для градуировочной характеристики каждого антиоксиданта не менее 0,98.

8.2.5 Антиоксиданты идентифицируют по абсолютным значениям времен удерживания.

Времена удерживания антиоксидантов приведены в приложении А.

8.2.6 Градуировочную характеристику устанавливают заново при каждой серии измерений.

8.3 ВЭЖХ-измерение

8.3.1 В инжектор хроматографа вводят по 0,01 $см^3$ экстракта пробы, подготовленной по 7,2 и проводят измерения в условиях, указанных в 8.1. Для каждой анализируемой пробы получают два результата измерений.

Регистрируют на хроматограммах пики, соответствующие временам удерживания антиоксидантов (см. приложение А), найденных при измерении градуировочных растворов.

8.3.2 Массовые концентрации антиоксидантов в экстракте пробы должны находиться в диапазоне градуировочной характеристики. В противном случае измерения проводят заново, уменьшая или увеличивая навеску пробы.

Примеры хроматограмм определяемых антиоксидантов приведены в приложении А.

9 Обработка результатов измерений

9.1 Используя хроматограмму, зарегистрированную по 8.3.1, при помощи программного обеспечения к хроматографу идентифицируют антиоксиданты по временам удерживания, используя их значения, полученные для градуировочных растворов. Времена удерживания антиоксидантов, полученные при анализе градуировочных хроматограмм, используют для идентификации пиков на хроматограмме анализируемой пробы. Определяют площади пиков идентифицированных антиоксидантов и, используя градуировочные характеристики (см. 8.2), находят массовую концентрацию этих антиоксидантов в экстракте анализируемой пробы.

9.2 Массовую долю антиоксиданта X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C \cdot V}{M} \cdot 0{,}1, \qquad (2)$$

где C — массовая концентрация антиоксиданта в экстракте анализируемой пробы, установленная согласно 9.1, $мг/см^3$;

V — объем, до которого разбавлена проба, $см^3$;

M — масса анализируемой пробы, г;

0,1 — коэффициент пересчета окончательного результата измерений в проценты.

Вычисления проводят с точностью до второго десятичного знака и выражают в процентах.

Окончательный результат измерений округляют до первого десятичного знака и выражают в процентах.

9.3 За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений анализируемой пробы, если выполняется условие приемлемости по ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.2.2). При невыполнении этого условия результат измерений устанавливают согласно ГОСТ ИСО 5725-6 (пункты 5.2.3 и 5.2.4).

10 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений массовой доли антиоксидантов с относительной расширенной неопределенностью результатов измерений при коэффициенте охвата $k = 2$, указанной в таблице 2.

Таблица 2 — Показатели точности метода при определении массовой доли антиоксидантов

Антиоксидант	Диапазон измерений массовой доли, %	Значение относительной расширенной неопределенности U, %, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Пропилгаллат	От 0,01 до 10,0 включ.	31	5	14	13
	Св. 10,0 до 50,0 включ.	19	3	9	9
Этоксиквин	От 0,01 до 50,0 включ.	20	3	9	9
Бутилгидроксианизол	От 0,01 до 10,0 включ.	31	5	15	15
	Св. 10,0 до 50,0 включ.	18	3	8	8
Бутилгидрокситолуол	От 0,01 до 10,0 включ.	34	8	16	21
	Св. 10,0 до 50,0 включ.	14	4	7	11

11 Оформление результатов измерений

Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют для каждого антиоксиданта в виде

$$\overline{X} \pm 0{,}01 \cdot U \cdot \overline{X}, \text{ при } k = 2, \quad (3)$$

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми, %;

U — значение относительной расширенной неопределенности массовой доли антиоксиданта для соответствующего диапазона измерений (см. таблицу 2), %.

12 Контроль стабильности результатов измерений

Контроль стабильности результатов измерений в пределах лаборатории осуществляют по ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 6.2.3) с использованием контрольных карт Шухарта.

Приложение А
(справочное)

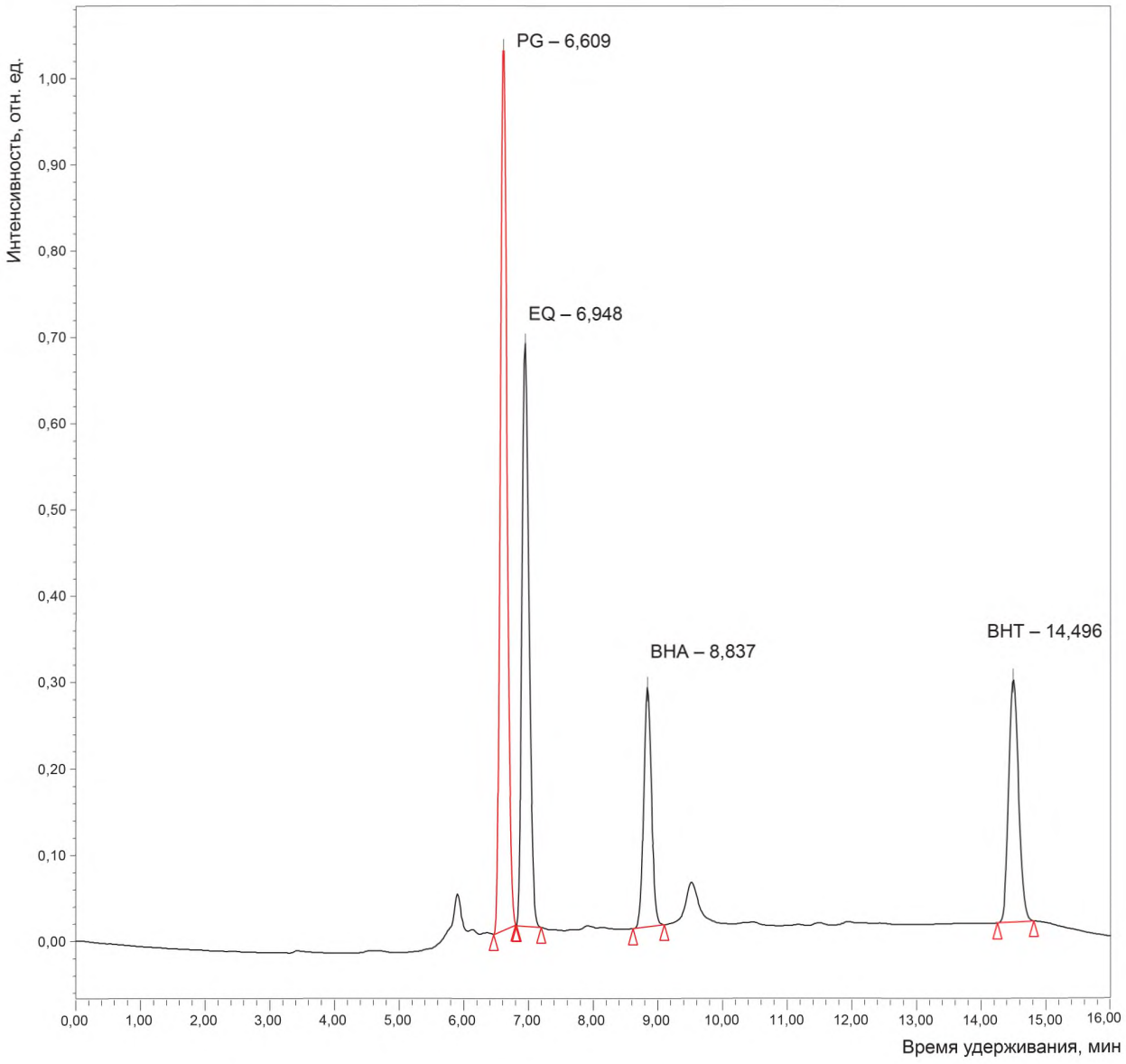
Времена удерживания антиоксидантов и примеры хроматограмм

А.1 Ориентировочные времена удерживания антиоксидантов на колонках, заполненных обращенно-фазовым сорбентом С18, приведены в таблице А.1.

Таблица А.1

Антиоксидант	Ориентировочные времена удерживания, мин, на колонке с обращенно-фазовым сорбентом С18		
	Колонка 1	Колонка 2	Колонка 3
	диаметром 4,6 мм, длиной 150 мм, с размером частиц не более 5,0 мкм	диаметром 4,0 мм, длиной 250 мм, с размером частиц не более 5,0 мкм	диаметром 3,9 мм, длиной 150 мм, с размером частиц не более 4,0 мкм
Пропилгаллат (PQ)	6,6	8,9	5,5
Этоксиквин (EQ)	6,9	9,8	6,5
Бутилгидроксианизол (BHA)	8,8	10,6	7,3
Бутилгидрокситолуол (BHT)	14,5	14,2	11,1

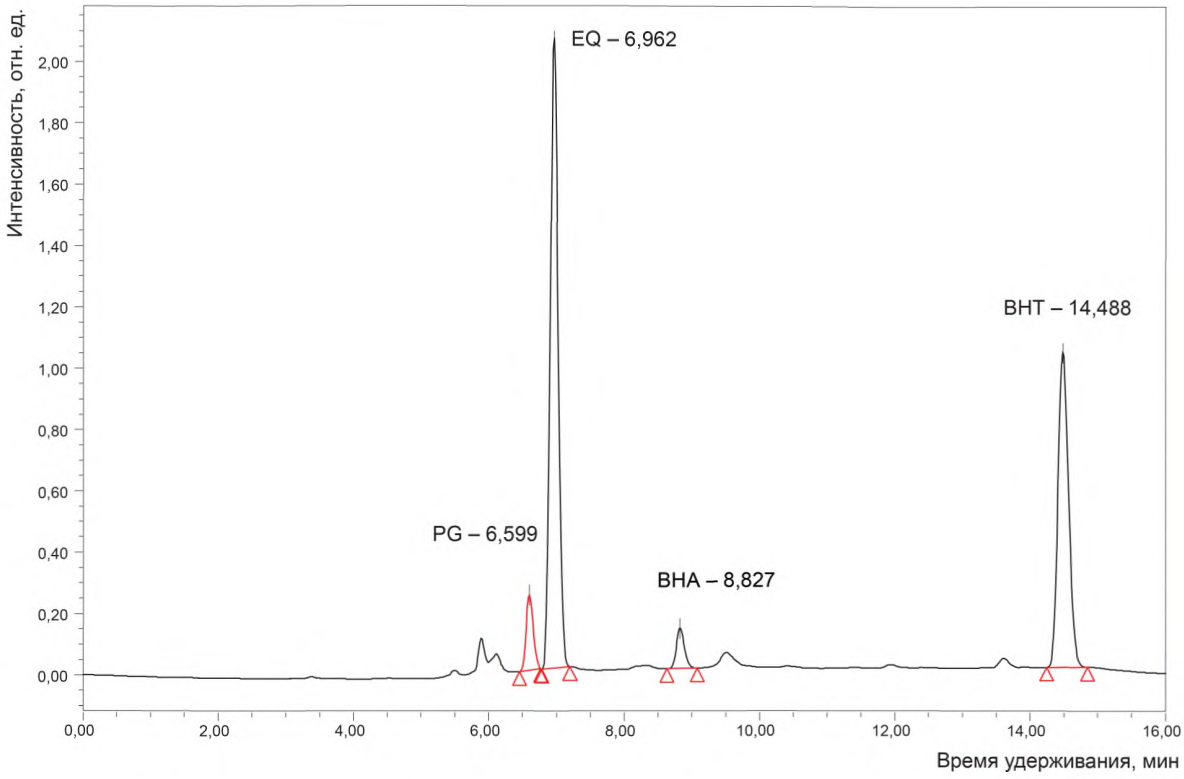
А.2 Пример хроматограммы градуировочного раствора антиоксидантов, полученной на колонке 1 (см. А.1) в условиях по 8.1.2 а), приведен на рисунке А.2.



6,609 мин — пик пропилгаллата (PG); 6,948 мин — пик этоксиквина (EQ); 8,837 мин — пик бутилгидроксианизола (BHA); 14,496 мин — пик бутилгидрокситолуола (BHT)

Рисунок А.2 — Хроматограмма градуировочного раствора антиоксидантов с массовой концентрацией 0,1 мг/см^3, полученная на колонке 1 (см. А.1)

А.3 Пример хроматограммы экстракта кормовой добавки, полученной на колонке 1 (см. А.1) в условиях по 8.1.2 а), приведен на рисунке А.3.



6,599 мин — пик пропилгаллата (PG); 6,962 мин — пик этоксиквина (EQ); 8,827 мин — пик бутилгидроксианизола (BHA); 14,488 мин — пик бутилгидрокситолуола (BHT)

Рисунок А.3 — Хроматограмма экстракта кормовой добавки, полученная на колонке 1 (см. А.1)

УДК 614.9:615:633.8:006.35

МКС 11.220
65.120

Ключевые слова: средства лекарственные для ветеринарного применения, корма, кормовые добавки, метод определения содержания антиоксидантов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием

БЗ 8—2018/11

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 27.08.2018. Подписано в печать 11.09.2018. 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 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

gost.e-ecolog.ru