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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34310— 2017

СРЕДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Методы определения остаточных количеств мертиолята, фенола, формальдегида

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 30 ноября 2017 г. № 52)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ISO 3166) 004–97	Код страны по МК (ISO 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 марта 2018 г. № 154-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34310—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2018 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

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

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

СРЕДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Методы определения остаточных количеств мертиолята, фенола, формальдегида

Biological medicine remedies for veterinary use.
Methods for determination of residues of merthiolate, phenol, formaldehyde

Дата введения — 2018—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на средства лекарственные биологические для ветеринарного применения (далее — лекарственные препараты) и устанавливает методы определения остаточных количеств мертиолята, фенола и формальдегида.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 8.423–81 Государственная система обеспечения единства измерений. Секундомеры механические. Методы и средства поверки

ГОСТ 12.0.004–2015 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

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

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 12.1.019–79* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009–83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 61–75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 1625–2016 Формалин технический. Технические условия

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

ГОСТ 3117–78 Реактивы. Аммоний уксуснокислый. Технические условия

ГОСТ 3118–77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4160–74 Реактивы. Калий бромистый. Технические условия

ГОСТ 4204–77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4206–75 Реактивы. Калий железосинеродистый. Технические условия

ГОСТ 4220–75 Реактивы. Калий двухромовокислый. Технические условия

ГОСТ 4232–74 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия

ГОСТ 4233–77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019–2009.

Издание официальное

ГОСТ 4457–74 Реактивы. Калий бромновато-кислый. Технические условия

ГОСТ 4461–77 Реактивы. Кислота азотная. Технические условия

ГОСТ 4517–2016 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе

ГОСТ 4658–73 Ртуть. Технические условия

ГОСТ 5100–85 Сода кальцинированная техническая. Технические условия

ГОСТ 5777–84 Калий марганцовокислый технический. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7298–79 Реактивы. Гидроксиламин сернокислый. Технические условия

ГОСТ 10163–76 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

ГОСТ 10259–78 Реактивы. Ацетилацетон. Технические условия

ГОСТ 13867–68 Продукты химические. Обозначение чистоты

ГОСТ ИСО/МЭК 17025–2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 20015–88 Хлороформ. Технические условия

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

ГОСТ 27068–86 Реактивы. Натрий серноватистокислый (натрия тиосульфат) 5-водный. Технические условия

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

ГОСТ 29251–91 (ИСО 385-1–84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по 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 Термины, определения

В настоящем стандарте применены термины с соответствующими определениями:

3.1 **формалин:** Водный раствор формальдегида (метиленгликоль), стабилизированный метанолом, применяемый для инактивирования токсинов, вирусов и бактерий.

Примечание — Наиболее распространенной является форма, содержащая до 40 % формальдегида, 8 % метилового спирта и 52 % воды.

3.2 **формальдегид:** Метиленгликоль (CH_2O).

3.3 **фенол:** Гидроксибензол (C_6H_5OH).

3.4 **мертиолят (тиомерсал):** Этилртутьтиосалицилатнатрия.

4 Требования безопасности и условия проведения анализов

4.1 Требования безопасности

4.1.1 В лаборатории должно быть организовано обучение персонала безопасности труда в соответствии с ГОСТ 12.0.004.

4.1.2 При работе с химическими реактивами необходимо соблюдать общие требования безопасности обращения с вредными веществами, установленные ГОСТ 12.1.007.

4.1.3 Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

4.1.4 При работе с электроустановками следует соблюдать требования электробезопасности, установленные в ГОСТ 12.1.019.

4.1.5 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, должно быть оснащено средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

4.2 Условия проведения анализов

4.2.1 Общие требования к помещениям — по ГОСТ ИСО/МЭК 17025.

4.2.2 Анализы проводят при температуре от 15 °С до 30 °С (комнатная температура).

4.2.3 Требования к персоналу — по ГОСТ ИСО/МЭК 17025. Персонал должен владеть методами проведения анализов и работы с химическими реактивами.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

5.1 Для определения остаточных количеств мертиолята, фенола, формальдегида применяют:

- весы лабораторные высокого класса точности с ценой деления 0,00001 г и пределом допускаемой погрешности в эксплуатации ± 0,05 мг;
- фотоэлектроколориметр или спектрофотометр, обеспечивающие измерения при длине волны от 414 до 620 нм, с пределами допускаемой основной абсолютной погрешности измерений коэффициента пропускания не более ± 3 %;
- секундомер 2-го класса точности с ценой деления 60 секундной шкалы 0,2 с и погрешностью за 10 мин ± 0,6 с по ГОСТ 8.423;
- таймер любого типа с погрешностью ± 30 с;
- баню водяную любого типа, обеспечивающую поддержание температуры до (100 ± 1) °С;
- центрифугу лабораторную с охлаждением со скоростью вращения не менее 7000 $мин^{-1}$;
- центрифугу лабораторную настольную, обеспечивающую скорость вращения не менее 3000 $мин^{-1}$;
- шкаф сушильный с температурой нагревания не ниже 100 °С;
- колбы мерные 1(2)–50(100,200,500) по ГОСТ 1770;
- колбы конические Кн-1–100(200,500)–18 ТХС с притертыми пробками по ГОСТ 25336;
- воронку делительную ВД-1–100 ХС по ГОСТ 25336;
- воронку стеклянную ВФ-1(2)–60-ПОР 500 ТХС по ГОСТ 25336;
- пипетки по ГОСТ 29227;
- пипетки автоматические вместимостью от 0,1 до 1,0 $см^3$ с наконечниками;
- пробирки П1-14–120 ХС или П1-16–150 ХС по ГОСТ 25336;
- стаканчики для взвешивания СН-32 и СН-43 по ГОСТ 25336;
- бюретку вместимостью 50 $см^3$ по ГОСТ 29251;
- стаканы В-1–25(50,100,150,250,600,800,1000) ТС по ГОСТ 25336;
- цилиндры 1(2,3,4)–50(100) по ГОСТ 1770;
- аминопиразолон;
- аммоний уксуснокислый по ГОСТ 3117;
- ацетилацетон по ГОСТ 10259;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- воду бидистиллированную по ГОСТ 4517;
- глицин;
- дитизон (1,5-дифенилтиокарбазон);
- хлороформ по ГОСТ 20015;
- натрия хлорида изотонического 0,9 %-ный раствор;
- гидроксиламин сернокислый по ГОСТ 7298, 20 %-ный раствор;
- кислоту уксусную по ГОСТ 61;
- кислоту соляную концентрированную по ГОСТ 3118;
- кислоту серную концентрированную по ГОСТ 4204;
- кислоту азотную по ГОСТ 4461;
- кислоту трихлоруксусную по ГОСТ 4517, 20 %-ный раствор;
- калий йодистый по ГОСТ 4232;
- калий бромновато-кислый по ГОСТ 4457;
- калий бромистый по ГОСТ 4160;
- калий двухромовокислый по ГОСТ 4220;
- калия перманганат по ГОСТ 5777, 5 %-ный раствор;
- калий железосинеродистый по ГОСТ 4206;

- крахмал растворимый по ГОСТ 10163, 1 %-ный раствор;
- натрия лаурилсульфат;
- натрия тиосульфат по ГОСТ 27068;
- натрия карбонат по ГОСТ 5100;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233;
- ртуть металлическую по ГОСТ 4658;
- трис(гидроксиметил)аминометан;
- формалин по ГОСТ 1625;
- фенилгидразин солянокислый с содержанием основного вещества не менее 96 %, 1,38 %-ный раствор;
- вату прокипяченную и высушенную.

Примечание — Все реактивы должны относиться к подгруппе чистоты 2 (х. ч.) или 3 (ч. д. а.) по ГОСТ 13867.

5.2 Допускается применение других средств измерений и посуды, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также вспомогательного оборудования, реактивов и материалов по качеству не ниже указанных в 5.1.

6 Метод определения остаточного количества мертиолята

6.1 Сущность метода

Метод основан на выделении ртути в виде свободных ионов и обработке их раствором дитизона в хлороформе. Образовавшийся дитизонат ртути определяют колориметрически.

6.2 Подготовка к анализу

6.2.1 Приготовление раствора серной кислоты

Серную кислоту концентрированную разводят бидистиллированной водой в соотношении 1:1 по объему (кислоту наливают в воду).

6.2.2 Приготовление раствора дитизона в хлороформе

Основной 0,01 %-ный раствор готовят растворением в хлороформе навески 10 мг дитизона в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$. Раствор годен к употреблению при хранении от 2 °С до 8 °С в темном месте в течение 1 мес.

0,001 %-ный раствор дитизона готовят перед употреблением путем разведения основного 0,01 %-ного раствора дитизона в хлороформе.

6.2.3 Приготовление основного стандартного раствора ртути концентрацией 1 мг/$см^3$

Для приготовления основного стандартного раствора ртути 0,5 г металлической ртути (точная навеска) растворяют в 15 $см^3$ концентрированной азотной кислоты в мерной колбе вместимостью 500 $см^3$, доводят бидистиллированной водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 3 мес в вытяжном шкафу в специально отведенном месте.

Допускается использование государственного стандартного образца (ГСО) раствора ионов ртути (II).

6.2.4 Приготовление рабочего стандартного раствора ртути концентрацией 10 мкг/$см^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ основного стандартного раствора ртути, доводят объем раствора бидистиллированной водой до метки и перемешивают.

6.2.5 Приготовление раствора уксусной кислоты концентрацией 6 моль/$дм^3$

Взвешивают 360 г ледяной уксусной кислоты и разводят дистиллированной водой до 1 $дм^3$. Раствор хранят при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 1 мес.

6.2.6 Приготовление 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия

Взвешивают 9 г хлористого натрия и растворяют его в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Раствор разливают по 100 и 250 $см^3$ в стеклянные флаконы и колбы соответствующей вместимости, фильтруют и стерилизуют при температуре 110 °С–120 °С в течение 15–20 мин или текучим паром при температуре 100 °С в течение 30 мин. Раствор хранят при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 6 мес.

6.2.7 Приготовление 5 %-ного раствора калия перманганата

50 г калия перманганата растворяют в 700 см^3 горячей бидистиллированной воды в конической колбе, охлаждают и переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, доводят объем раствора бидистиллированной водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 1 мес.

6.2.8 Построение калибровочного графика

Точные объемы рабочего стандартного раствора ртути — 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2 см^3, соответствующие по содержанию ртути примерно 4, 6, 8, 10, 12 мкг, помещают в колбы с притертыми пробками вместимостью 100 см^3. Затем добавляют по 1,2 см^3 серной кислоты по 6.2.1, 5 см^3 уксусной кислоты молярной концентрации 6 моль/дм^3, 30 см^3 бидистиллированной воды, 5 см^3 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия. Содержимое каждой колбы перемешивают и добавляют из бюретки по 10 см^3 0,001 %-ного раствора дитизона в хлороформе по 6.2.2. Смеси сильно взбалтывают в течение 30 с, переносят в делительную воронку, собирают хлороформный слой и отфильтровывают через бумажный фильтр. Допускается центрифугирование смеси с последующим отбором хлороформного слоя с помощью пипетки, дозатора или груши и фильтрованием. Отфильтрованный хлороформный слой фотоколориметрируют против контрольного раствора, содержащего те же компоненты, но без стандартного раствора ртути, при длине волны 570 нм (оранжевый светофильтр) или при длине волны 620 нм (красный светофильтр), или используют спектрофотометр при длине волны 597 нм.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс содержание ртути в мкг, а по оси ординат — соответствующие величины оптической плотности.

Калибровочный график строят при каждом определении мертиолята.

6.3 Проведение анализа

0,2 см^3 лекарственного препарата вносят в колбу с притертой пробкой вместимостью 100 см^3, добавляют 1,2 см^3 раствора серной кислоты по 6.2.1 (при наличии в препарате гидроокиси алюминия, смесь осторожно нагревают на водяной бане до полного ее растворения), 5 см^3 5 %-ного раствора перманганата калия, хорошо перемешивают и оставляют на 1 ч. Для удаления избытка перманганата калия добавляют 1,5 см^3 20 %-ного раствора сернокислого гидроксиламина, добавляют 30 см^3 бидистиллированной воды, 5 см^3 раствора уксусной кислоты молярной концентрации 6 моль/дм^3 и перемешивают. К полученному раствору из бюретки (дозатора) добавляют 10 см^3 0,001 %-ного раствора дитизона в хлороформе и взбалтывают в течение 30 с.

Содержимое колбы переносят в делительную воронку и после разделения слоев нижний хлороформный слой фильтруют через бумажный фильтр в кювету с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. Определяют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 597 нм против контрольного раствора (смесь реактивов без лекарственного препарата) или на фотоэлектроколориметре при длине волны 570 или 620 нм — как при построении калибровочной кривой, в кювете с толщиной слоя 10 мм.

По калибровочному графику находят содержание ртути в анализируемом растворе.

6.4 Обработка результатов

Содержание мертиолята в лекарственном препарате X_1, %, рассчитывают по формуле

$$X_1 = \frac{C \cdot 100}{0{,}2 \cdot 49{,}55}, \quad (1)$$

где C — содержание ртути, найденное по калибровочному графику, мкг;

0,2 — объем анализируемого лекарственного препарата, см^3;

49,55 — содержание ртути в 100 частях мертиолята.

7 Методы определения остаточного содержания фенола

7.1 Метод определения фенола бромным титрованием

Метод основан на определении продуктов бромирования фенола (три-бромфенола) в безбелковом экстракте методом йодометрического титрования.

7.1.1 Подготовка к анализу

7.1.1.1 Приготовление раствора бромид-бромата молярной концентрации 0,1 моль/дм^3

Поскольку раствор брома, вследствие своей летучести, непостоянен, готовится смесь бромновато-кислого и бромистого калия (бромид-бромат).

Точную навеску бромновато-кислого калия 2,7837 г, высушенного в сушильном шкафу при температуре от 105 °С до 110 °С, и около 10 г бромистого калия (не менее 9,92 г) растворяют примерно в 300 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 0,5 $дм^3$, доводят водой до метки и перемешивают. Раствор хранят во флаконах из темного стекла с притертыми пробками в течение одного месяца.

7.1.1.2 Приготовление раствора тиосульфата натрия молярной концентрации 0,1 моль/$дм^3$

26 г тиосульфата натрия и 0,1 г карбоната натрия растворяют в свежепрокипяченной и охлажденной дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1 $дм^3$, доводят водой до метки и перемешивают. Раствор выдерживают 10 суток в темном месте. При наличии осадка жидкость сифонируют. Хранят во флаконах из темного стекла с притертыми пробками в течение месяца.

7.1.1.3 Приготовление 20 %-ного раствора йодистого калия

20 г йодистого калия растворяют в мерной колбе вместимостью 200 $см^3$ в 30–50 $см^3$ дистиллированной воды и доводят объем раствора до 100 $см^3$. Раствор хранят во флаконах из темного стекла в течение месяца.

7.1.1.4 Установка титра тиосульфата натрия молярной концентрации 0,1 моль/$дм^3$ (поправочный коэффициент K_0)

0,15 г (точная навеска) мелкорастертого калия двухромовокислого ($K_2Cr_2O_7$), перекристаллизованного и высушенного при температуре от 130 °С до 150 °С до постоянной массы, растворяют в 50 $см^3$ дистиллированной воды в колбе с притертой пробкой вместимостью 200 $см^3$. Добавляют 2 г йодистого калия, растворенного в 10 $см^3$ воды, 5 $см^3$ соляной кислоты, закрывают пробкой, смоченной раствором йодистого калия, и оставляют в темном месте в течение 10 мин. Добавляют 200 $см^3$ дистиллированной воды, обмывая пробку водой, и титруют приготовленным раствором тиосульфата натрия до зеленовато-желтого окрашивания. Затем приливают 2–3 $см^3$ 1 %-ного раствора крахмала и продолжают титровать до перехода синей окраски в светло-зеленую. Поправочный коэффициент (K_0) вычисляют по формуле

$$K_0 = \frac{\alpha}{T \cdot V}, \quad (2)$$

где α — навеска калия двухромовокислого, г;

T — количество тиосульфата натрия, содержащегося в 1 $см^3$ раствора молярной концентрации 0,1 моль/$дм^3$, равное 0,004904 г;

V — объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование, $см^3$.

7.1.1.5 Установка титра раствора бромид-бромата калия молярной концентрации 0,1 моль/$дм^3$ (поправочный коэффициент K)

Точно отмеряют из бюретки 30 $см^3$ раствора бромид-бромата калия в колбу с притертой пробкой, добавляют 120 $см^3$ дистиллированной воды и 5 $см^3$ концентрированной соляной кислоты. Закрывают пробкой и взбалтывают, затем добавляют 2 г йодистого калия, растворенного в 10 $см^3$ дистиллированной воды, снова закрывают пробкой, взбалтывают. Смесь оставляют на 5 мин в темном месте и выделившийся йод титруют раствором тиосульфата натрия молярной концентрации 0,1 моль/$дм^3$ до обесцвечивания (индикатор — 1 %-ный раствор крахмала). Поправочный коэффициент (K) вычисляют по формуле

$$K = \frac{V_0}{V} \cdot K_0, \quad (3)$$

где V_0 — объем раствора тиосульфата натрия молярной концентрации 0,1 моль/$дм^3$, израсходованный на титрование, $см^3$;

V — объем раствора бромата калия, взятый на определение, $см^3$;

K_0 — поправочный коэффициент 0,1 моль/$дм^3$ раствора тиосульфата натрия.

7.1.1.6 Подготовка пробы лекарственного препарата

В пробирку вместимостью 10 $см^3$ вносят 5 $см^3$ анализируемого лекарственного препарата, добавляют равный объем 20 %-ного раствора трихлоруксусной кислоты. Пробирку тщательно встряхивают и оставляют на 5–6 мин при температуре от 15 °С до 30 °С. Коагулированные белки удаляют фильтрованием через бумажный фильтр или центрифугированием при скорости вращения 3000 $мин^{-1}$, и в фильтрате (центрифугате) определяют свободный фенол.

7.1.2 Проведение анализа

2 см^3 фильтрата (центрифугата) вносят в колбу с притертой пробкой, добавляют 25 см^3 раствора бромид-бромата калия и 2 см^3 соляной кислоты (при этом могут образоваться кристаллы трибромфенола, которые не влияют на результаты анализа). Оставляют на 15 мин при температуре от 15 °С до 30 °С. Добавляют 4 см^3 20 %-ного раствора йодистого калия. Выделившийся йод титруют раствором тиосульфата натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3 в присутствии 1 %-ного раствора крахмала в качестве индикатора до обесцвечивания.

7.1.3 Обработка результатов

Содержание фенола X_2, %, в образце рассчитывают по формуле

$$X_2 = (25 \cdot K - A \cdot K_0) \cdot 0{,}001567 \cdot 100, \quad (4)$$

где 25 — объем раствора бромид-бромата, взятый на титрование, см^3;

K — поправка к титру раствора бромид-бромата калия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3;

K_0 — поправка к титру раствора натрия тиосульфата молярной концентрации 0,1 моль/дм^3;

A — объем раствора натрия тиосульфата, пошедшего на титрование, см^3;

0,001567 — количество фенола, соответствующее 1 см^3 раствора бромид-бромата калия, г;

100 — пересчет в проценты.

7.2 Метод определения фенола с феррицианидом калия

Метод основан на окислении фенола в щелочных условиях в присутствии калия феррицианида (III) с образованием тиохрома.

7.2.1 Подготовка к анализу

7.2.1.1 Приготовление буферного раствора

15,4 г трис(гидроксиметил)аминометана, 72,1 г глицина, 5 г лаурилсульфата натрия растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе, доводя объем раствора до 500 см^3. pH буферного раствора 9,0 ед. pH. Перед использованием буферный раствор разводят дистиллированной водой в соотношении 1:10. Раствор хранят при температуре от 15 °С до 30 °С в течение одного месяца.

7.2.1.2 Приготовление раствора аминопиразалона

0,5 г аминопиразалона растворяют в 0,5 дм^3 буферного раствора. Раствор используют свежеприготовленным.

7.2.1.3 Приготовление раствора железосинеродистого калия

5 г железосинеродистого калия растворяют в 95 см^3 дистиллированной воды. Хранят при комнатной температуре в течение одного месяца.

7.2.1.4 Приготовление стандартных растворов фенола для калибровочного графика

Готовят серию стандартных растворов фенола с содержанием 5, 10, 15, 20 и 30 мкг/см^3.

7.2.2 Проведение анализа

К 5 см^3 анализируемого лекарственного препарата и каждого стандартного раствора по 7.2.1.4 прибавляют 5 см^3 буферного раствора по 7.2.1.1, 5 см^3 раствора аминопиразолона и 5 см^3 раствора железосинеродистого калия. Выдерживают 10 мин и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 546 нм.

7.2.3 Обработка результатов

Строят калибровочный график по 6.2.8, откладывая по оси абсцисс содержание фенола, а по оси ординат соответствующие значения величин оптической плотности. По нему рассчитывают содержание фенола в пробе.

8 Методы определения остаточного количества формальдегида

8.1 Метод определения с фенилгидразином

Метод основан на цветной реакции формальдегида с солянокислым фенилгидразином и железосинеродистым калием в присутствии соляной кислоты.

8.1.1 Подготовка к анализу

8.1.1.1 Приготовление 5 %-ного раствора железосинеродистого калия по 7.2.1.3.

8.1.1.2 Приготовление 1,38 %-ного раствора фенилгидразина солянокислого 1,38 г фенилгидразина солянокислого растворяют в 98,62 см^3 дистиллированной воды. Разливают в склянки из темного стекла и используют свежеприготовленным.

8.1.1.3 Приготовление стандартного раствора формальдегида с концентрацией 0,025 %

Количество формалина X_3, см^3, необходимое для приготовления 100 см^3 0,025 %-ного раствора формальдегида, рассчитывают по формуле

$$X_3 = \frac{0{,}025 \cdot 100}{A}, \quad (5)$$

где A — содержание формальдегида в исходном формалине, %;

0,025 — концентрация стандартного формальдегида, %;

100 — объем исходного раствора формалина, см^3.

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят количество формалина, рассчитанное по формуле (5), доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор хранят при температуре от 15 °С до 30 °С не более 3 мес.

8.1.1.4 Построение калибровочного графика

Из стандартного раствора по 8.1.1.3 готовят разведения с содержанием формальдегида 0,0025; 0,005; 0,01; 0,015 и 0,02 % и проводят с ними определения по 8.1.2. Строят градуировочный график: по оси абсцисс откладывают концентрации формальдегида, по оси ординат — оптические плотности при длине волны 540 нм.

8.1.1.5 Подготовка пробы

Пробу объемом 5–10 см^3 центрифугируют в течение 10 мин при скорости вращения 7000–10000 мин$^{-1}$ и температуре 4 °С. Надосадочную жидкость разводят дистиллированной водой в 2–4 раза в зависимости от предполагаемой концентрации.

8.1.2 Проведение анализа

К 2,5 см^3 анализируемой пробы добавляют 0,5 см^3 свежеприготовленного 5 %-ного раствора калия железосинеродистого и перемешивают. Затем вносят 2 см^3 концентрированной соляной кислоты и после перемешивания — 1 см^3 1,38 %-ного свежеприготовленного раствора солянокислого фенилгидразина. Снова перемешивают и через 15 мин измеряют интенсивность окраски на фотоэлектроколориметре или спектрофотометре, используя кюветы шириной 10 мм при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр) против контроля (смесь реактивов без анализируемой пробы).

8.1.3 Обработка результатов

Концентрацию формальдегида в процентах определяют по калибровочной кривой с учетом разведений.

8.2 Метод определения формальдегида с ацетилацетоном

Метод основан на взаимодействии формальдегида с ацетилацетоном в среде уксуснокислого аммония с образованием соединения, окрашенного в желтый цвет. Измерение оптической плотности полученного окрашенного раствора проводят на спектрофотометре при длине волны (414 ± 20) нм.

8.2.1 Подготовка к анализу

8.2.1.1 Подготовка проб

Вакцины и сыворотки разводят в 10 раз; бактерийные анатоксины — в 25 раз.

8.2.1.2 Приготовление основного раствора формальдегида с концентрацией 20 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят раствор формалина с номинальной массовой концентрацией формальдегида 1 мг/см^3 и доводят содержимое колбы до метки дистиллированной водой.

Срок хранения приготовленного раствора в герметично закрытой мерной колбе при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 1 мес. Перед использованием раствор выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С не менее 20 мин.

8.2.1.3 Приготовление ацетилацетон-аммиачного реагента

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 15 г уксуснокислого аммония и растворяют его в небольшом количестве дистиллированной воды, затем добавляют 0,3 см^3 концентрированной уксусной кислоты, 1 см^3 ацетилацетона, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Срок хранения приготовленного реагента в емкости из темного стекла — не более 1 мес.

8.2.2 Проведение анализа

В пробирки вносят по 1 см^3 разведений формальдегида (рабочего раствора), 4 см^3 дистиллированной воды, 5 см^3 раствора формальдегида по 8.2.1.2 и 5 см^3 ацетилацетон-аммиачного реагента по 8.2.1.3. Пробы лекарственного препарата прогревают при температуре 40 °С в течение 40 мин

и охлаждают до температуры от 15 °С до 30 °С. Измеряют оптические плотности при длине волны (414 ± 20) нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 5 мм, используя в качестве раствора сравнения дистиллированную воду.

Строят калибровочный график: по оси абсцисс откладывают концентрации формальдегида, по оси ординат — оптическую плотность. Градуировочный раствор, не содержащий формальдегида (с массовой концентрацией формальдегида, равной нулю), является холостой пробой.

Подготовленные анализируемые пробы и холостую пробу нагревают 40 мин при температуре 40 °С и охлаждают до температуры от 15 °С до 30 °С, после чего измеряют их оптическую плотность при длине волны (414 ± 20) нм относительно дистиллированной воды.

8.2.3 Обработка результатов

По калибровочному графику определяют содержание формальдегида в лекарственном препарате с учетом разведений.

УДК 619:615.371:006.354

МКС 11.220
65.020.30

Ключевые слова: средства лекарственные биологические для ветеринарного применения, методы определения, формалин, формальдегид, фенол, мертиолят, дитизон

БЗ 5—2018/11

Редактор *А.А. Кабанов*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 28.03.2018. Подписано в печать 29.03.2018. 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

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru