Методика внесена в Государственный Реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора

ФР.1.31.2001.00248

МУ 08-47/089

(по реестру аккредитованной метрологической службы)

ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ КОРМА И ПОДКОРМКИ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВИТАМИНА B_1 МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

Издание второе. Изменением №1

Томск

gost.e-ecolog.ru

ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ВНЕДРЕНЧЕСКАЯ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФИРМА "ЮМХ"АККРЕДИТОВАННАЯ МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ СЛУЖБА ТПУ
(аттестат об аккредитации № РОСС RU 01.00143-03 от 24.12.01)

СВИДЕТЕЛЬСТВО ОБ АТТЕСТАЦИИ МВИ

№ 08-47/089 А

(взамен 08-47/089)

Методика выполнения измерений массовой концентрации витамина B_1 методом дифференциальной вольтамперометрии, разработанная в Томском политехническом университете и ООО «ВНП Ф «ЮМХ» и регламентированная в МУ 08-47/089 (по реестру аккредитованной метрологической службы Томского политехнического университета) с Изменением №1

ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ КОРМА И ПОДКОРМКИ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВИТАМИНА B_1 МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563 (ГОСТ 8.010).

Аттестация осуществлена по результатам теоретического и экспериментального исследования МВИ.

В результате аттестации МВИ установлено, что данная МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками:

1 Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости методики при доверительной вероятности P=0,95

Наименование определяемого элемента	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r\left(\overset{0}{\delta}\right)$, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R\left(\overset{0}{\delta}\right)$, %	Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики), δ, %
Витамин B_1	От 50 до 3000, включ.	8	15	33

2 Диапазон измерений, значения пределов повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности P=0,95

Наименование определяемого компонента	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений), *r*	Предел воспроизводимости (для двух результатов измерений), *R*
Витамин B_1	От 50 до 3000, включ.	$0{,}22 \cdot \overline{X}$	$0{,}42 \cdot \overline{\overline{X}}$

$\overline{X}$ - среднее арифметическое значение результатов параллельных определений массовой концентрации компонента

$\overline{\overline{X}}$ - среднее арифметическое значение результатов анализа, полученных в двух лабораториях

3 Дата выдачи свидетельства 30 июля 2004 г

Метролог метрологической службы ТПУ

_____Н.П.Пикула

« 30 » июля 2004 г.

«СОГЛАСОВАНО»
Главный метролог ТПУ

_____Е.Н.Рузаев

“ ___ ” _____2004 г.

«СОГЛАСОВАНО»
Руководитель органа ГМС
Зам.директора по метрологии
ФГУ «Томский ЦСМ»

_____М.М.Чухланцева

“ ___ ” _____2004 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по НР ТПУ

_____В.А.Власов

“ ___ ” _____2004 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ООО «ВНПФ «ЮМХ»

_____Ю.Б.Слепченко

«30» июля 2004 г.

ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ВНЕДРЕНЧЕСКАЯ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФИРМА "ЮМХ"АККРЕДИТОВАННАЯ МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ СЛУЖБА ТПУ
(аттестат об аккредитации № РОСС RU 01.00143-03 от 24.12.01)

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по НР ТПУ
_____В.А.Власов
"____"_____2004 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ООО «ВНПФ «ЮМХ»
_____Г.Б.Слепченко
" 30 " июля 2004 г.

МЕТОДИКА ВНЕСЕНА В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР МЕТОДИК ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СФЕРАХ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕТРОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ И НАДЗОРА
ФР.1.31.2001.00248

МУ 08-47/089
(по реестру метрологической службы)

ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ КОРМА И ПОДКОРМКИ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВИТАМИНА B_1 МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

Издание второе (с Изменением №1)

«СОГЛАСОВАНО»
Метролог метрологической службы ТПУ
_____Н.П.Пикула
" 30 " июля 2004 г

Томск – 2004

1 НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Методика предназначена для анализа проб витаминизированных кормов и подкормок и устанавливает порядок определения массового концентрации витамина B_1 (тиамина) методом дифференциальной вольтамперометрии.

Методика применяется для определения массовых концентраций витамина B_1 в диапазоне от 50 до 3000 мг/кг.

(Измененная редакция, Изм. №1)

2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 8.563-96	Методики выполнения измерений
ГОСТ 12.1.004-91	ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования
ГОСТ 12.1.019-79	ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты
ГОСТ 12.4.009-83	ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание
ГОСТ 1770-74	Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Технические условия
ГОСТ 2156-76	Натрий двууглекислый. Технические условия
ГОСТ 4172-76	Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12- водный. Технические условия
ГОСТ 4858-73	Ртуть. Технические условия
ГОСТ 6709-72	Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 9293-74 (ИСО 2435-73)	Азот газообразный и жидкий. Технические условия
ГОСТ 10852-86	Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб
ГОСТ 12026-76	Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
ГОСТ 13496.0-80	Комбикорма, сырье. Методы отбора проб
ГОСТ 13586.3-83	Зерно. Правила приемки и методы отбора проб
ГОСТ 13979.0-86	Жмыхи, шроты и горчичный порошок. Правила приемки и методы отбора проб
ГОСТ 17435-72	Линейки чертежные. Технические условия
ГОСТ 21400-75	Стекло химико-лабораторное. Технические требования. Методы испытаний
ГОСТ 24104-2001	Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия
ГОСТ 25336-82	Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 27262-87	Корма растительного происхождения. Методы отбора проб
ГОСТ 29225-91 (ИСО 1775-75)	Посуда и оборудование фарфоровые лабораторные. Общие требования и методы испытаний
ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81)	Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования
ГОСТ Р 8.563-96	Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений
ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения
ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике.

(Измененная редакция, Изм. №1)

3 СУЩНОСТЬ МЕТОДИКИ

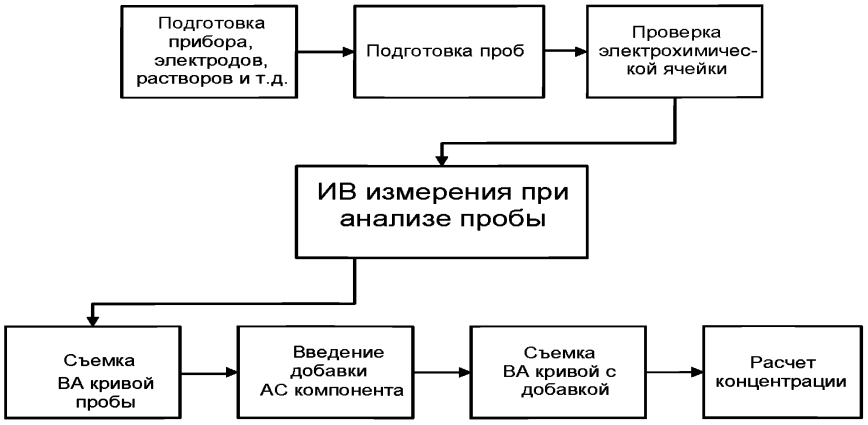
Сущность методики состоит в переводе витамина B_1 из пробы витаминизированного корма и подкормки в раствор путем растворения навески соответствующей пробы в воде с последующим вольтамперометрическим (ВА) определением массовой концентрации витамина B_1 (тиамина хлорида).

Метод ВА измерения основан на способности витамина B_1 восстанавливаться на индикаторном ртутно-пленочном электроде при определенном потенциале, характерном для данного органического вещества (компонента).

Процесс электрохимического восстановления витамина B_1 проводят в растворе натрия фосфорнокислого двузамещенного концентрации 0,1 моль/дм^3 на индикаторном ртутно-пленочном электроде при потенциале, равном (минус 1,25 – минус 1,30) В относительно нас.х.с.э. в зависимости от содержания B_1 в пробе.

Регистрацию аналитического сигнала на вольтамперограмме проводят при линейно-меняющемся (в сторону отрицательных значений) потенциале на полярографе ПУ-1 или при дифференциально-импульсной развертке потенциала с использованием аналитического вольтамперометрического комплекса СТА в дифференциальном режиме съемки вольтамперограмм. Массовую концентрацию витамина B_1 в пробе определяют методом добавок аттестованных смесей витамина B_1 (тиамина хлорида).

Общая схема анализа методом ИВ состоит из следующих этапов:



4 ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОГРЕШНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

4.1 Методика выполнения измерений массовых концентраций витамина B_1 в пробах витаминизированных кормов и подкормок методом дифференциальной вольтамперометрии обеспечивает получение результатов измерений с погрешностью, не превышающей значений, приведенных в таблице 1А.

Таблица 1А – Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости методики при доверительной вероятности P=0,95

Наименование определяемого компонента	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r\left(\overset{0}{\delta}\right)$, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R\left(\overset{0}{\delta}\right)$, %	Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики), δ,%
Витамин B_1	От 50 до 3000 включ.	8	15	33

4.2 Значения показателя точности методики используют при:

- оценке деятельности лабораторий на качество проведения испытаний;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики выполнения измерений в конкретной лаборатории.

(Измененная редакция, Изм. №1)
Таблица 1 (Исключена, Изм. №1)
Таблица 1 А (Введена дополнительно, Изм. №1)

5 ТРЕБОВАНИЯ К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

5.1 Условия безопасного проведения работ

5.1.1 При выполнении анализов необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами.

5.1.2 Электробезопасность при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

5.1.3 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

5.2 Требования к квалификации операторов

Измерения может проводить химик-аналитик, владеющий техникой вольтамперометрического анализа и изучивший инструкцию по эксплуатации используемой аппаратуры.

5.3 Условия выполнения измерений

Измерения проводят в нормальных лабораторных условиях:

- Температура окружающего воздуха $(25 \pm 10)\ ^{\circ}C$
- Атмосферное давление (97 ± 10) кПа
- Относительная влажность (65 ± 15) %
- Частота переменного тока (50 ± 5) Гц
- Напряжение в сети (220 ± 10) В

6 ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Отбор проб проводят согласно требованиям ГОСТ 10852, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 13979.0, ГОСТ 27262.

Корма и витаминизированные подкормки анализируют в течение рабочего дня, так как витамин B_1 со временем в растворе разлагается (происходит уменьшение его концентрации).

7 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

При проведении количественного химического анализа применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, посуду, материалы и реактивы.

7.1 Средства измерений и вспомогательное оборудование

7.1.1 Полярограф (РА-2, ПУ-1 или другой) в комплекте с двухкоординатным самописцем и цифровым вольтметром типа Ф-203 по [1];

– или комплекс аналитический вольтамперометрический СТА [2] в комплекте с IBM-совместимым компьютером (порядок работы приведен в приложении Б);

Допускается использовать другое оборудование и приборы, позволяющие воспроизводить метрологические характеристики, указанные в данной методике анализа.

7.1.2 Электроды:

* индикаторный электрод - ртутно-пленочный на серебряной подложке с толщиной пленки ртути 10 – 20 мкм и рабочей поверхностью 0,2 $см^2$;

* электрод сравнения – насыщенный хлорсеребряный в насыщенном растворе хлорида калия [3] с сопротивлением не более 3,0 кОм.

7.1.3 Электролитическая ячейка, или датчик:

- сменные стаканчики из кварцевого стекла вместимостью 15...20 $см^3$;

- стеклянная или тефлоновая трубка с оттянутым концом для подвода инертного газа для удаления кислорода из раствора и его перемешивания.

7.1.4 Весы лабораторные аналитические общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г, 2-го класса точности по ГОСТ 24104.

7.1.5 Дозаторы типа ДП-1-50 или ДП-1-200 или ДП-1-1000 с дискретностью установки доз 1,0 или 3,0 мкл и погрешностью не более 5 % отн.

7.1.6 Шланги резиновые для подвода газа к ячейке (при использовании инертного газа).

7.1.7 Линейка чертежная мерительная по ГОСТ 17435.

7.1.8. Центрифуга лабораторная марки Опн-8.

7.2 Посуда

7.2.1 Пипетки мерные лабораторные стеклянные 2-го класса точности вместимостью 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$ по ГОСТ 29227.

7.2.2 Посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности по ГОСТ 1770: колбы вместимостью 25,0; 50,0; 100,0; 250,0; 1000,0 $см^3$, цилиндры вместимостью 10,0 $см^3$.

7.2.3 Палочки стеклянные по ГОСТ 21400.

7.2.4 Воронки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336.

7.2.5 Ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 29225.

7.3 Реактивы и материалы

7.3.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

7.3.2 Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный по ГОСТ 4172.

7.3.3 Калия хлорид [3].

7.3.4 Натрий двууглекислый по ГОСТ 2156.

7.3.5 Фармакопейный препарат: сухой порошок витамина B_1 (тиамина хлорида) с содержанием основного вещества не менее 99,5%.

7.3.7 Азот газообразный по ГОСТ 9293 или другой инертный газ (аргон, гелий) с массовой долей кислорода не более 0,03 %.

7.3.8 Ртуть по ГОСТ 4858.

7.3.9 Бумага фильтровальная любой марки по ГОСТ 12026.

7.3.10 Бумага масштабно-координатная.

7.3.2, 7.3.5 (Измененная редакция, Изм. №1)

7.3.6 Исключен (Изм. №1)

8 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Подготовка приборов к работе

Подготовку и проверку полярографа или вольтамперометрического анализатора (СТА или др.), самописца и цифрового вольтметра или компьютера проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническому описанию соответствующего прибора.

Устанавливают режим работы приборов:

ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СЕРИЙНЫХ ПОЛЯРОГРАФОВ

- двухэлектродную систему измерений;
- постояннотоковый режим регистрации вольтамперограмм;
- поляризующее напряжение начала развертки потенциала витамина B_1, равное минус 0,80 В;
- скорость линейного изменения потенциала 30 мВ/с;
- чувствительность прибора при регистрации вольтамперограммы $5 \cdot 10^{-9} \ldots 1 \cdot 10^{-8}$ А/мм (в зависимости от содержания витамина в анализируемой пробе).

8.2 Проверка и подготовка лабораторной посуды

8.2.1 Лабораторную стеклянную посуду, сменные наконечники дозаторов, пипетки протирают фильтром с питьевой содой, промывают многократно дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

8.2.2 Проверку стаканчиков для анализа на чистоту проводят путем регистрации вольтамперограмм раствора фонового электролита по 9.1 после многократного ополаскивания их дистиллированной водой и раствором фонового электролита.

Оптимальными по чистоте являются реактивы и посуда, когда регистрируются аналитические сигналы органического соединения в растворе фонового электролита по высоте равные или близкие к нулю (пик менее 2 мм при чувствительности прибора $5 \cdot 10^{-9}$ А/мм).

8.3 Приготовление и проверка работы индикаторного электрода и электрода сравнения

8.3.1 Подготовка индикаторного ртутно-пленочного электрода

Индикаторный ртутно-пленочный электрод представляет собой фторопластовый стержень с запрессованной серебряной проволокой диаметром 0,8 мм длиной 5 – 7 мм, площадь поверхности составляет около 0,2 $см^2$ (поставляется потребителю в готовом виде разработчиком методики – ООО ВНПФ «ЮМХ» г.Томск). Для подготовки электрода к работе на рабочую поверхность электрода наносят на поверхность серебра пленку ртути толщиной 8 – 10 мкм. Покрытие ртутью производят путем опускания рабочей части электрода (серебряной проволоки) в металлическую ртуть на 2 – 3 с, затем ртуть растирают фильтровальной бумагой для равномерного распределения по поверхности серебра. В том случае, если на конце серебряной проволоки "свисает" избыточное количество ртути в виде капли, ее удаляют стряхиванием в бюкс с ртутью. Электрод промывают дистиллированной водой. Процедуру амальгамирования рабочей поверхности электрода повторяют при появлении незаамальгамированных участков на поверхности электрода. При образовании серого налета на поверхности, электрод протирают фильтровальной бумагой.

8.3.2 Подготовка к работе электрода сравнения

В качестве электрода сравнения используют насыщенный хлорсеребряный электрод.

Электрод сравнения заполняют насыщенным раствором хлорида калия. При первом заполнении электрод выдерживают не менее 48 час.

8.3.3 Проверку работы индикаторного ртутно-пленочного электрода и электрода сравнения проводят по 9.1 настоящей методики.

8.4 Приготовление растворов

8.4.1 Приготовление основного раствора витамина B_1, содержащий 1000 $мг/дм^3$ тиамина хлорида.

На аналитических весах берут навеску (0,050±0,001) г витамина B_1 (тиамина хлорида), переносят в мерную колбу вместимостью 50,0 $см^3$,

растворяют в небольшом количестве бидистиллированной воды и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

8.4.2 Приготовление раствора фонового электролита

Фоновый электролит – раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного концентрации 0,1 моль/дм^3.

На аналитических весах взвешивают навеску (35,8 ± 0,1) г натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного, переносят в мерную колбу вместимостью 1,0 дм^3, растворяют в небольшом количестве бидистиллированной воды и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

8.5 Подготовка проб

8.5.1 Анализ витаминизированных подкормок и кормов

Навеску пробы массой 1,0 г, взятой с точностью до 0,001 г, переносят в колбу, вместимостью 250,0 см^3, добавляют 50,0 см^3 бидистиллированной воды. Тщательно перемешивают, осадку дают отстояться в течение 2 – 5 мин. Раствор над осадком отфильтровывают через бумажный фильтр.

Для ВА измерений берут аликвоту, объемом 1,0 – 10,0 см^3, взятую с точностью до 0,01 см^3.

8.5.3 При анализе проб кормов и витаминизированных подкормок «холостую» пробу делать не обязательно, так как витамин B_1 как загрязнение ни в реактивах, ни в воде не обнаружен. Посуда отмывается от витамина B_1 очень легко.

8.1.1, 8.4.1, 8.4.2, 8.5.1 (измененная редакция, Изм.№1).
8.5.2 Исключен (Изм. №1).
Таблица 2 Исключена (Изм.№1).

9 ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

При проведении анализов проб витаминизированных подкормок и кормов для определения массовой концентрации витамина B_1 вольтамперометрическим методом выполняют следующие операции по одному из выбранных вариантов:

ВАРИАНТ А – ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПОЛЯРОГРАФА:

Полярограф предварительно должен быть подготовлен по 8.1.1.

9.1 Проверка стаканчиков, фонового раствора и электрода на чистоту

9.1.1 В кварцевый стаканчик вместимостью 15 – 20 $см^3$ вносят 10,0 $см^3$ раствора фонового электролита (натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного концентрации 0,1 моль/$дм^3$). Стаканчик с раствором фонового электролита помещают в электролитическую ячейку или датчик.

9.1.2 Опускают в раствор индикаторный электрод и электрод сравнения. Подключают к прибору индикаторный электрод и электрод сравнения, устанавливают потенциал минус 0,80 В.

9.1.3 Устанавливают чувствительность прибора $5 \cdot 10^{-9}$….$1 \cdot 10^{-8}$ А/мм.

9.1.4 Включают газ и в течение 180 с удаляют из раствора кислород пропусканием газообразного азота.

9.1.5 Отключают газ и через 5 с начинают регистрацию вольтамперограммы в диапазоне потенциалов от минус 0,80 В до минус 1,60 В. Потенциал катодного пика витамина B_1 находиться в диапазоне от минус 1,25 В до минус 1,30 В (в зависимости от содержания витамина).

9.1.6 Операции по 9.1.4…9.1.6 повторяют три раза.

9.1.7 При наличии на вольтамперограмме сигнала органического вещества с высотой пика менее 2 мм стаканчик, фоновый раствор и индикаторный электрод считают готовыми к проведению измерений. В противном случае проводят очистку электрода или стаканчика и повторяют операции по 9.1.1…9.1.7.

9.1.8 Отключают электроды от прибора, вынимают стаканчик с раствором из ячейки или датчика и выливают содержимое стаканчика.

9.2 ВА измерения пробы

9.2.1 В стаканчик, подготовленный к проведению ИВ-измерений по 9.1, помещают

или 1,0 $см^3$ анализируемой пробы витаминизированных подкормок и премиксов, подготовленной к измерению по 8.5.1 и доводят объем фоновым раствором до 10,0 $см^3$;

или 10,0 $см^3$ анализируемой пробы кормов, подготовленной к измерению по 8.5.2.

9.2.2 Помещают стаканчик с анализируемым раствором в электролитическую ячейку или датчик.

9.2.3 Повторяют последовательно операции по 9.1.2….. 9.1.6.

9.2.4 Если высота катодного пика витамина B_1 (потенциал пика минус 1,30 В) превышает 200 мм, то уменьшают чувствительность прибора (загрубить). Если высота катодного пика витамина B_1 будет меньше 5 мм, то увеличивают чувствительность прибора.

9.2.5 Операции по 9.1.4…9.1.6 повторяют три - пять раз, исключая первый пик.

9.2.6 Измеряют линейкой высоты катодных пиков определяемого компонента.

9.2.7 В стаканчик с анализируемым раствором с помощью пипетки или дозатора вносят добавку аттестованной смеси витамина B_1 в таком объеме, чтобы высота пика на вольтамперной кривой увеличилась примерно в два раза по сравнению с первоначальной.

Добавку вносят в малом объеме, чтобы предотвратить изменение концентрации витамина в пробе. Рекомендуемые добавки аттестованной смеси известной концентрации приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Рекомендуемые добавки аттестованных смесей при анализе проб витаминизированных подкормок и кормов

Диапазон определяемых концентраций компонента, мг/кг	50...100	100 ... 1000	1000... 1500	1500... 3000
Навеска пробы, г	1	1	1	1
Объем растворенной пробы, $см^3$	50	50	50	50
Объем аликвоты, $см^3$	10	5	1	1
Концентрация аттестованной смеси для добавок, $мг/дм^3$	1000	1000	1000	1000
Рекомендуемый объем добавок, $см^3$	0,01 ... 0,02	0,01 ... 0,1	0,02... 0,03	0,03... 0,06

9.2.8 Проводят регистрацию вольтамперограмм по 9.1.4....9.1.6 три раза.

9.2.9 Измеряют высоты катодных пиков витамина B_1 в пробе с добавкой аттестованных смесей.

9.2.10 Выливают содержимое стаканчика.

9.2.11 Стаканчик протирают фильтром с питьевой содой, промывают дистиллированной водой или раствором фонового электролита.

Операции по 9.2.1...9.2.11 проводят для каждой из параллельных анализируемых проб в одинаковых условиях.

При выполнении анализа по настоящей методике рекомендуется ведение записей условий анализа в рабочем журнале и регистрация вольтамперограммы на ленте самописца с указанием пробы и условий анализа согласно таблице 4.

Таблица 4 - Рекомендуемая форма записи результатов измерений при анализе проб

Определяемый компонент	Анализируемая проба (характеристика, номер, дата…)	Условия измерений (чувствительность; время электролиза ; объем аликвоты)	Высота пика компонента в пробе, мм, или ток, А	Добавка АС: Vд $см^3$, $С_{доб}$ $мг/дм^3$.	Высота пика компонента после добавки АС, мм, или ток, А

9, 9.1.1, 9.1.2, 9.1.4, 9.1.5 (Измененная редакция. Изм. №1).
9.1.6 (Исключен, Изм. №1).
9.2.4, 9.2.7, 9.2.8 (Измененная редакция, Изм. №1).
Таблица 3 (Измененная редакция, Изм. №1).

10 ВЫЧИСЛЕНИЕ И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Обработку результатов измерений аналитических сигналов (высот катодных пиков определяемого компонента) и расчет концентраций в анализируемой пробе проводят следующим образом:

10.1 Расчет величин максимальных катодных токов (аналитических сигналов)

10.1.1 Для определяемого компонента рассчитывают среднее из трех значений аналитических сигналов, полученных при трехкратной регистрации вольтамперограммы пробы, не учитывая первую вольтамперограмму.

10.1.2 По средней высоте катодного пика для данного компонента вычисляют значение максимального катодного тока витамина по формуле (1):

$$I_i = h_i \cdot \alpha \ , \qquad (1)$$

где индекс i относится к анализируемой пробе (i =1) и к пробе с добавкой АС компонента (i =2);

I_i - величина максимального катодного тока данного компонента в данной пробе, А;

h_i - средняя высота пика компонента на вольтамперограмме, мм;

α - чувствительность прибора при регистрации данного пика, А/мм.

Такой расчет проводят как для вольтамперных кривых при регистрации анализируемой пробы (i =1), так и для анализируемой пробы с добавкой аттестованной смеси компонента (i =2).

10.1.3 Если регистрация вольтамперограмм пробы и пробы с добавкой АС компонента проводится без изменения чувствительности прибора и самописца, то операции по 10.1.2 не проводят, используют в дальнейших расчетах величины высот пиков вместо токов пиков.

10.2 Расчет содержания компонента в пробе

10.2.1 Расчет содержания ***витамина B_1*** в анализируемой пробе проводится по формуле (2):

$$X_i = \frac{I_1 \cdot C_д \cdot V_д \cdot V_{пр}}{I_2 - I_1 \cdot m \cdot V_{ал}}, \qquad (2)$$

где: X_i – содержание ***витамина B_1*** в анализируемой пробе, мг/кг;

$C_д$ – концентрация АС витамина B_1, из которой делается добавка к анализируемой пробе, мг/дм^3;

$V_д$ – объем добавки АС витамина B_1, см^3;

I_1 – величина максимального катодного тока витамина B_1, в анализируемой пробе, А;

I_2 – величина максимального катодного тока витамина B_1 в пробе с добавкой АС, А;

m – масса анализируемой пробы, г ;

$V_{пр}$ – объем растворенной пробы, см^3;

$V_{ал}$ – объем аликвоты раствора пробы, взятой для ВА-измерения, см^3.

Таким образом, получен результат анализа первой параллельной пробы – X_1.

Аналогичные вычисления проводят для второй параллельной анализируемой пробы. Получают соответственно значения X_2 .

10.4 Проверка приемлемости результатов измерений

10.4.1 Проверяют приемлемость полученных результатов параллельных определений. Расхождение между полученными результатами двух параллельных анализируемых проб не должно превышать предела повторяемости *r.* Значение предела повторяемости для двух результатов параллельных определений приведено в таблице 5 А.

Таблица 5 А – Диапазон измерении, значения пределов повторяемости при доверительной вероятности P=0,95

Наименование определяемого компонента	Диапазон измеряемых концентраций, мг/кг	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений), *r*	Предел повторяемости (для четырех результатов параллельных определений), r^*
Витамин B_1	От 50 до 3000, включ.	$0{,}22 \cdot \overline{X}$	$0{,}29 \cdot \overline{X}$
$\overline{X}$ - среднее арифметическое значение результатов параллельных определений массовой концентрации компонента			

Результаты считают приемлемыми при выполнении условия

$$|X_1 - X_2| \le r. \qquad (3)$$

Абсолютное значение предела повторяемости рассчитывается для среднеарифметического значения результатов двух параллельных определений

$$\overline{X} = \frac{X_1 + X_2}{2} \quad . \qquad (4)$$

При выполнении условия (3) значение $\overline{X}$ принимается за результат измерения массовой концентрации каждого определяемого компонента в пробе.

10.4.2 При превышении предела повторяемости (r) необходимо дополнительно получить еще два результата параллельных определений. Если при этом размах ($X_{max} - X_{min}$) результатов четырех параллельных определений равен или меньше предела повторяемости r^*, то в качестве окончательного результата принимают среднее арифметическое значение результатов четырех параллельных определений. Значения предела повторяемости (r^*) для четырех результатов параллельных определений приведены в таблице 5А.

10.4.3 Если размах ($X_{max} - X_{min}$) больше r^*, выясняют причины появления неприемлемых результатов параллельных определений. При этом проводят оперативный контроль повторяемости по МИ 2335-2003 «Рекомендация. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного хи-

мического анализа» [4] или разделу А.2 приложения А настоящего документа на методику.

10.5 Оформление результатов измерений

10.5.1 Результаты измерений хранят в памяти компьютера (при использовании компьютеризированного вольтамперометрического анализатора) или оформляют записью в журнале. При этом приводят сведения об анализируемой пробе, условиях измерений, дате получения результата измерений. Запись в журнале удостоверяет лицо, проводившее измерения.

10.5.2 Результат измерения (анализа) в документах, выдаваемых лабораторией, представляют в следующих видах:

$\overline{X} \pm \Delta$, мг/кг , Р=0,95

или $\overline{X} \pm \Delta_{Л}$, мг/кг, Р=0,95, при условии $\Delta_{Л} \leq \Delta$,

где: $\overline{X}$ – результат измерения, полученный в соответствии с настоящим документом на методику выполнения измерений;

$\pm \Delta_{Л}$ – значения характеристики погрешности результатов измерений, установленные при реализации методики лаборатории;

$\pm \Delta$ – значения характеристики погрешности настоящей методики выполнения измерений, которые рассчитываются по формуле

$$\Delta = 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \qquad (5)$$

где δ - относительное значение показателя точности (характеристики погрешности) методики, приведенное в таблице 1.

Примечание: Характеристику погрешности результатов измерений при реализации методики в лаборатории допускается устанавливать по формуле

$$\Delta_{Л} = 0{,}84 \cdot \Delta \qquad (6)$$

с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений по разделам 12.3 и 12.4 настоящего документа.

10.3 (Исключен, Изм. №1).
10.4, 10.5 (Введены дополнительно, Изм. №1).
11 (исключен, Изм. №1)
Таблица 5 А (Исключена, Изм.№1).

12 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ МЕТОДИКИ В ЛАБОРАТОРИИ

12.1 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

- оперативный контроль процедуры анализа (на основе оценки погрешности результатов анализа при реализации отдельно взятой контрольной процедуры);
- контроль стабильности результатов анализа (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности, погрешности, среднеквадратического отклонения повторяемости).

12.2 Оперативный контроль процедуры анализа (выполнения измерений) проводят:

- при внедрении методики выполнения измерений в лаборатории;
- при появлении факторов, которые могут повлиять на стабильность процесса анализа (например, при смене партии реактивов, после ремонта прибора, при длительном промежутке времени между анализами и т.д.).

Оперативный контроль процедуры анализа проводит сам исполнитель с целью проверки его готовности к проведению анализа рабочих проб.

Оперативный контроль процедуры анализа проводят по МИ 2335-2003 «Рекомендация. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа» или по приложению А настоящего документа на методику.

12.3 Одной из форм ***контроля стабильности результатов анализа*** является контроль стабильности результатов анализа в пределах лаборатории с использованием контрольных карт, реализуемый

- путем контроля и поддержания на требуемом уровне погрешности результатов измерений;
- путем контроля и поддержания на требуемом уровне внутрилабораторной прецизионности;
- путем контроля и поддержания на требуемом уровне повторяемости результатов параллельных определений.

12.4 Процедуры и периодичность контроля точности (контроля стабильности) получаемых результатов измерений в пределах лаборатории проводят с учетом требований раздела 6 ГОСТ Р ИСО 5725-6 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике» или по МИ 2335-2003 «Рекомендация. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

Ответственность за организацию проведения контроля стабильности результатов анализа возлагают на лицо, ответственное за систему качества в лаборатории.

12.5 Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

13 ПРОВЕРКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ ДЛЯ ДВУХ ЛАБОРАТОРИЙ

13.1 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости (в двух лабораториях, т=2), проводят с учетом требований 5.3.2.1 ГОСТ Р ИСО 5725-6 по отношению к пределу воспроизводимости, приведенному в таблице 6 А, или к критической разности для двух среднеарифметических результатов измерений в соответствии с 5.3.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6 .

Расхождение между результатами измерений, полученных в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости.

При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их общее среднее значение. Значения предела воспроизводимости приведены в таблице 6 А.

При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно раздела 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

Таблица 6 А - Диапазон измерений, значения предела воспроизводимости при доверительной вероятности Р=0,95

Компонент	Диапазон измеряемых концентраций, мг/кг	Предел воспроизводимости (для двух результатов) *R*
Витамин B_1	От 50 до 3000, включ.	0,42 . $\overline{\overline{X}}$
$\overline{\overline{X}}$ - среднеарифметическое значение результатов анализа, полученных в двух лабораториях		

13.2 Разрешение противоречий между результатами двух лабораторий проводят в соответствии с 5.3.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

11 (Исключен, Изм.№1).
Таблица 5 (Исключена, Изм. №1).
12, 13 (Введены дополнительно, Изм. №1).
Таблицы 5А, 6А (Введены дополнительно, Изм. №1).

ПРИЛОЖЕНИЕ А
Алгоритмы оперативного контроля процедуры анализа

А.1 Общие положения

А.1.1 Оперативный контроль процедуры анализа осуществляет непосредственно исполнитель на основе информации, получаемой при реализации отдельно взятой контрольной процедуры с использованием средств контроля.

А.1.2 Роль средств контроля выполняют:

- образцы для контроля (ГСО природных вод или АС по МИ 2334-2002 «Смеси аттестованные. Общие требования к разработке» [5]);
- рабочие пробы с известной добавкой определяемого элемента;
- рабочие пробы стабильного состава.

А.1.3 Схема оперативного контроля процедуры анализа предусматривает:

- реализацию контрольной процедуры;
- расчет результата контрольной процедуры;
- расчет норматива контроля;
- сравнение результата контрольной процедуры с нормативом контроля;
- принятие решения по результатам контроля.

А.2 Алгоритм оперативного контроля повторяемости результатов контрольных измерений

Образцами для контроля являются любые средства контроля (по А.1.2).

А.2.1 Получают два результата параллельных определений средства контроля.

А.2.2 Реализуют схему контроля повторяемости (по А.1.3), получая два результата параллельных определений. Результат контрольной процедуры равен

$$r_K = |X_1 - X_2|. \qquad (А.1)$$

Норматив контроля повторяемости равен пределу повторяемости r при n=2, значение которого приведено в таблице 4 А.

Проверяют условие

$$r_K \le r. \qquad (А.2)$$

А.2.3 Если условие (А.2) выполняется, то рассчитывают результат контрольной процедуры анализа как среднее арифметическое из результатов двух параллельных определений.

Если $r_K > r$, то делают повторную контрольную процедуру, получая заново два результата параллельных определений.

При повторном превышении предела повторяемости процедуру анализа прекращают и выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

А.3 Алгоритм оперативного контроля процедуры анализа в условиях внутрилабораторной прецизионности

А.3.1 Образцами для выполнения данной процедуры являются средства контроля по А.1.2. Объем отобранной пробы для контроля должен соответствовать удвоенному объему (массы), необходимому для проведения измерений. Отобранный объем (масса) делят на две части и анализируют в соответствии с требованиями настоящей методики в условиях внутрилабораторной прецизионности или различными операторами, или в различное время, или с использованием различных средств измерений и т.д., при соблюдении условий и сроков хранения проб.

Получают соответственно $\overline{X_1}$ и $\overline{X_2}$.

А.3.2 Рассчитывают результат контрольной процедуры

$$R_{ЛК} = \left|\overline{X_1} - \overline{X_2}\right|. \quad (А.3)$$

Рассчитывают или устанавливают норматив контроля внутрилабораторной прецизионности

$$R_Л = 0,84 \cdot R, \quad (А.4)$$

где R – значение предела воспроизводимости, приведенное в таблице 6А,

$\overline{\overline{X}}$ - среднее арифметическое значение результатов, полученных в условиях внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности.

А.3.3 Результаты, полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности ($\overline{X_1}, \overline{X_2}$), считают удовлетворительными при условии

$$R_{ЛК} \le R_Л. \quad (А.5)$$

А.3.4 При выполнении условия (А.5) общее среднее арифметическое $\overline{\overline{X}}$ представляют в качестве результата контрольной процедуры.

При невыполнении условия (А.5) измерения повторяют.

При повторном невыполнения условия (А.5) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

А.4 Алгоритм контроля точности процедуры выполнения измерений с использованием метода добавок

А.4.1 Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры Кк с нормативом контроля Кд.

А.4.2 Результат контрольной процедуры Кк рассчитывают по формуле:

$$K_K = \left| \overline{X}^{/} - \overline{X} - C \right|, \text{ где} \qquad \text{(А.6)}$$

$\overline{X}^{/}$ - результат контрольного измерения массовой концентрации элемента в пробе с известной добавкой – среднее арифметическое двух результатов параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости *r*. Значение *r* приведено в таблице 5А.

$\overline{X}$ - результат контрольного измерения массовой концентрации элемента в пробе без добавки - среднее арифметическое двух результатов параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости *r*;

С - величина добавки.

Примечание. Величина добавки должна составлять от 50 до 150 % от массовой концентрации элемента в пробе без добавки.

А.4.3 Норматив оперативного контроля Кд рассчитывают по формуле

$$K_Д = \sqrt{\Delta_{л\overline{X}^{/}}^{2} + \Delta_{л\overline{X}}^{2}} \text{ ,где} \qquad \text{(А.7)}$$

$\Delta_{л\overline{X}^{/}}$, $\Delta_{л\overline{X}}$ – значения характеристики погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие массовой концентрации элемента в пробе без добавки и в пробе с добавкой соответственно.

При установлении $\Delta_П$ можно использовать примечание в разделе 10.5.2 настоящего документа.

А.4.4 Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении условия:

$$Кк \le Кд . \qquad \text{(А.8)}$$

При невыполнении условия (А.8) эксперимент повторяют.

При повторном невыполнении условия (А.8) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

А.5 Алгоритм оперативного контроля процедуры выполнения измерений с использованием образцов для контроля

А.5.1 Образцами для контроля являются рабочие пробы анализируемых объектов с отсутствием данного элемента или малой концентрацией элемента, в которые введена точная концентрация искомого элемента (аттестованная характеристика – *С*). Элемент концентрации *С* вводят в пробу до стадии пробоподготовки.

А.5.2 Алгоритм проведения контроля точности с применением образцов для контроля состоит в сравнении результата контрольной процедуры $К_к$, равного разности между результатом контрольного измерения аттестованной характеристики в образце для контроля – *Х* и его аттестованным значением – *С*, с нормативом оперативного контроля точности – *К*.

Результат контрольной процедуры равен

$$K_K = \left| \overline{X} - C \right|. \qquad \text{(А.9)}$$

Норматив контроля точности К рассчитывают по формуле:

$$К = \Delta_{Л} = 0{,}84 \cdot \Delta. \qquad \text{(А.10)}$$

А.5.3 Точность контрольного измерения признают удовлетворительной, если:

$$Кк \leq К\ . \qquad \text{(А.11)}$$

При невыполнении условия (А.11) эксперимент повторяют.

При повторном невыполнении условия (А.11) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

Приложение А (Измененная редакция, Изм. №1).
Таблицы А1, А2, А3 исключены (Изм. №1).

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

выполнение измерений с использованием КОМПЛЕКСА АНАЛИТИЧЕСКОГО ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО СТА для определения витамина B_1 в витаминизированных подкормках и кормах

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный прибор.

Б.1 После приготовления нового ртутно-пленочного электрода проверяют его работу по ***контрольным пробам витамина B_1***.

Для этого проводят следующие операции: из команды «ВЫБОР» выбирают файл «В1».

Б.1.1 Загружают или создают трассу анализа со следующими параметрами:

Трасса «В1»

<table>
<tr><td>Ячейки</td><td colspan="2">1 – Вкл. 2 – Вкл.</td><td colspan="2">3 – Вкл.</td><td></td><td>Тип развертки</td></tr>
<tr><td>Этапы</td><td>Время</td><td>Потен-циал</td><td>УФО</td><td>Газ</td><td>Меш.</td><td rowspan="6">Диф.-импульсная

Шаг - 10
Амплитуда – 40
Задержка 1- 70
Задержка 2 – 5
Заполнение – 70
Потенциал - 0,0

Iрез = 11 – 12
График разв.</td></tr>
<tr><td>1. Подготовка раствора</td><td>180 с</td><td>- 1,600</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>2. Обработка раствора</td><td>0 с</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>3. Обработка электрода</td><td colspan="2">0 с
Цикл м с 1: 0,00
0 2: 0,00</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>4. Очистка электрода</td><td>0 с</td><td>0</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>5. Накопление</td><td>30 с</td><td>- 0,800</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл</td></tr>
<tr><td>6. Успокоение</td><td>5 с</td><td>- 0,800</td><td colspan="3">Отключено</td><td rowspan="4"></td></tr>
<tr><td>7. Развертка</td><td>Скорость 30 мВ/с</td><td>- 1,600</td><td colspan="3">Отключено</td></tr>
<tr><td colspan="3">Число циклов – 5
Множитель – 1· 10^{-10}
Производная – Вкл.
Инверсия – Вкл.
Фильтр – 30</td><td colspan="3">Сплайн-развертка
Выкл.
Вычитание ФОНа
Выкл.</td></tr>
<tr><td colspan="6">Диапазоны поиска пиков элементов:
Элемент В1
Потенциал - 1,30
Зона [+/- мВ] 100</td></tr>
</table>

Б.1.2 Стаканчики с раствором фонового электролита – раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного концентрации 0,10 моль/дм^3 объемом 10,0 см^3 помещают в анализатор.

Б.1.3 Устанавливают электроды:

Ртутно-пленочный (катод) – в гнездо РЭ,

Хлорсеребряный (анод) – в гнездо ХСЭ,

Трубочки для подачи газа.

Б.1.4 Погружают электроды в раствор фонового электролита и запускают команду «ФОН» (см. «Руководство пользователя»).

Б.1.5 Снимают 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ» «Руководство пользователя»).

Б.1.6 Производят команду «ВЫХОД».

Б.1.7 Переходят в команду «ПРОБЫ».

Б.1.8 Вводят в стаканчики с раствором фонового электролитом 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина B_1 концентрации 1000,0 $мг/дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина B_1 равным 2,0 $мг/дм^3$ при объеме пробы 10,0 $см^3$.

Б.1.9 Запускают команду «ПРОБА» (установить курсор на «ПУСК/СТОП», щелкнуть левой клавишей мыши один раз), производят несколько съемок вольтамперных кривых, производят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ») (См. «Руководство пользователя») и переходят в команду «ДОБАВКА» (см. «Руководство пользователя»).

Б.1.10 Вводят в каждый стаканчик еще одну добавку аттестованного раствора витамина B_1 объемом 0,02 $см^3$ концентрации 1000,0 $мг/дм^3$ и запускают команду «ДОБАВКА».

Б.1.11 Пока комплекс проводит измерения, заполняют таблицу в графе «КОЛИЧЕСТВО».

Масса навески	-	
Объем пробы	10,00 [$см^3$]	
Объем минерализата	10,00 [$см^3$]	
Объем аликвоты	10,00 [$см^3$]	
ДОБАВКА		
Элемент	Объем добавки АС [$см^3$]	Концентрация АС [$мг/дм^3$]
B1	0,02	1000,0

После обработки вольтамперных кривых добавки («УСРЕДНЕНИЕ») смотрят «СОДЕРЖАНИЕ».

Если расхождение между результатами в ячейках составляет <30%, ртутно-пленочный электрод считают пригодным к работе. После этого приступают к измерению проб в такой же последовательности. Электроды готовы к работе.

Б.2 Измерения при анализе пробы на содержание витамина B_1

Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

Б.2.1 В проверенные на чистоту кварцевые стаканчики вносят

или 1,0 $см^3$ анализируемой пробы витаминизированных подкормок и премиксов, подготовленной к измерению по 8.5.1 и доводят объем фоновым раствором до 10,0 $см^3$

или 10,0 $см^3$ анализируемой пробы кормов, подготовленной к измерению по 8.5.

Б.2.2 Запускают команду «ПРОБА» из колонки «ДЕЙСТВИЯ». Запускают команду «ПУСК». После каждого цикла измерений на экран выводятся очередные вольтамперограммы характерного типа. В результате выполнения серии измерений на экране должно быть по 3-5 вольтамперограмм в каждом из окон вывода, соответствующим ячейкам 1, 2, 3. Не воспроизводимые вольтамперограммы исключают.

Б.2.3 После измерения сигнала В1 в пробе выходят из меню действий по пробе и входят в меню "ДОБАВКА". Заполняют таблицу "КОЛИЧЕСТВО" в меню действий по «ДОБАВКЕ» (согласно таблицы 3).

Например:

Масса навески	1,00 [г]	
Объем пробы	-	
Объем минерализата	50,00 [$см^3$]	
Объем аликвоты	1,00 [$см^3$]	
ДОБАВКА		
Элемент	Объем добавки АС [$см^3$]	Концентрация АС [$мг/дм^3$]
B1	0,02	1000,0

Б.2.4 Вносят с помощью пипетки или дозатора добавку АС витамина B_1 с такими же параметрами в каждую ячейку и запускают измерение по добавке, нажав "ПУСК" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Если к этому моменту времени комплекс провел измерение и разметка кривых проведена, можно сразу посмотреть результаты анализа в таблице «СОДЕРЖАНИЕ» (см. «Руководство пользователя»).

После завершения всех измерений, исключения выпавших кривых и усреднения результатов - анализ пробы на содержание витамина B_1 завершен. Окончательный результат можно просмотреть в «Содержание» и занести в «АРХИВ» (см. «Руководство пользователя»).

(Измененная редакция, Изм. №1)

ПРИЛОЖЕНИЕ В

(информационное)

Библиография

[1] ТУ 25-04-1696-75 Вольтметр цифровой. Технические условия

[2] ТУ 4215-001-20694097-98 Комплекс СТА аналитический вольтамперометрический. Технические условия

[3] ТУ 6-09-3678-74 Калия хлорид ос. ч.. Технические условия

[4] МИ 2335-95 Рекомендации. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа

[5] МИ 2334-2002 Рекомендация. ГСИ. Смеси аттестованные. Общие требования к разработке

ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ВНЕДРЕНЧЕСКАЯ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФИРМА "ЮМХ"
АККРЕДИТОВАННАЯ МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ СЛУЖБА
НИЛ МИКРОПРИМЕСЕЙ ТПУ и ТЦСМ
(свидетельство об Аккредитации № РОСС RU 01.00017)

СВИДЕТЕЛЬСТВО ОБ АТТЕСТАЦИИ МВИ
(№ 08-47/089)

Методика выполнения измерений массовой концентрации витамина B_1 методом инверсионной вольтамперометрии, разработанная в Томском политехническом университете и ВНПФ "ЮМХ" и регламентированная в МУ 08-47/089 (по реестру метрологической службы)

Корма и витаминизированные подкормки. Определение массовых концентраций витамина B_1 методом инверсионной вольтамперометрии

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96.

Аттестация осуществлена по результатам теоретического и экспериментального исследования МВИ.

В результате аттестации МВИ установлено, что данная МВИ обладает следующими основными метрологическими характеристиками:

1. Значения характеристики относительной погрешности и ее составляющих при доверительной вероятности P=0,95

Наименование определяемого компонента и диапазон измеряемых содержаний, X, мг/кг	Характеристика погрешности (границы интервала, в котором погрешность находится с заданной вероятностью), $\pm\delta$, %	Характеристика случайной составляющей погрешности (среднеквадратическое отклонение случайной составляющей), $\sigma(\delta)$, %	Характеристика систематической составляющей погрешности (границы интервала, в котором систематическая составляющая погрешности находится с заданной вероятностью). $\pm\delta_c$, %
ВИТАМИН B_1 от 50 до 3000 вкл.	33	15	13

2. Значение нормативов оперативного контроля

2.1 Значения нормативов оперативного контроля случайной составляющей относительной погрешности (сходимости и воспроизводимости) при доверительной вероятности P=0,95

Наименование определяемого компонента и диапазон измеряемых содержаний, X, мг/кг	Норматив оперативного контроля воспроизводимости (для двух результатов измерений, m=2), D, %	Норматив оперативного контроля сходимости (для двух результатов параллельных определений, n=2), d, %
ВИТАМИН B_1 от 50 до 3000 вкл.	42	22

2.2. Значения нормативов оперативного контроля относительной погрешности при проведении контроля с использованием образцов для контроля

Наименование определяемого компонента и диапазон измеряемых содержаний, X, мг/кг	Норматив внутрилабораторного оперативного контроля погрешности (P=0,90), K, %	Норматив внешнего контроля погрешности (P=0,95), K, %
ВИТАМИН B_1 от 50 до 3000 вкл.	28	33

2.3. Значения нормативов оперативного контроля погрешности при проведении контроля методом добавок

Норматив оперативного контроля погрешности (допускаемое значение разности между результатом контрольного измерения пробы с добавкой - X', пробы - X и величиной добавки - C) во всем диапазоне измеряемых содержаний определяемого компонента рассчитывают по формулам :

- при проведении внутрилабораторного контроля (Р=0,90):

$$K' = 0,84\sqrt{(\Delta x')^2 + (\Delta x)^2}\ , \text{мг/кг}$$

- при проведении внешнего контроля (Р=0,95):

$$K' = \sqrt{(\Delta x')^2 + (\Delta x)^2}\ , \text{мг/кг}$$

где

Δx ($\Delta x'$) - характеристика погрешности, соответствующая содержани определяемого компонента в исходной рабочей пробе (рабочей пробе добавкой);

$\Delta x = 0,01 * \delta_x * X$ (X - содержание определяемого компонента в пробе);

$\Delta x' = 0,01 * \delta_x * X$ (X- содержание определяемого компонента в пробе добавкой)

Метролог аккредитованной
метрологической службы

Н.П.Пикула
"27" марта 2000 г.

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по НР ТПУ

В.Я.Ушаков

2000 г.

УТВЕРЖДАЮ

Директор ВНПФ "ЮМХ"

Г.Б.Слепченко

2000 г.

СОГЛАСОВАНО

Зам.директора УНИИМ

И.Е.Добровинский

2000 г.

"31" 03

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

РАЗРАБОТЧИКИ:

Михеева Е.В. – инж. НИЛ микропримесей Томского политехнического университета, ООО ВНПФ «ЮМХ»;

Анисимова Л.С. – к.х.н., доцент кафедры физической и аналитической химии Томского политехнического университета, ООО ВНПФ «ЮМХ»;

Филичкина О.Г. – н.с. НИЛ микропримесей Томского политехнического университета, ООО ВНПФ «ЮМХ»;

Пикула Н.П. – доцент кафедры физической и коллоидной химии ТПУ, к.х.н., эксперт-аудитор Системы аккредитации аналитических лабораторий (центров);

Слепченко Г.Б. – зав. НИЛ микропримесей ТПУ, к.х.н., с.н.с., ООО ВНПФ «ЮМХ».

© ООО «Внедренческая научно-производственная фирма «ЮМХ»

(382-2) 563-860, 563-572,

microlab@tpu.ru, gost.e-ecolog.ru

Инструкция
Выполнение измерений с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА (с программным обеспечением Windows)

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный вольтамперометрический комплекс.

1. Подготовка проб

1.1. Анализ витаминизированных подкормок и премиксов

Пробу витаминизированной подкормки готовят для анализа путем растворения навески витаминизированной подкормки в фоновом растворе.

Навеску пробы массой (согл. табл.), взятой с точностью до 0,001 г, переносят в колбу вместимостью 250,0 $см^3$, добавляют 50,0 $см^3$ фонового раствора. Тщательно перемешивают, далее пробу отфильтровывают через бумажный фильтр.

Для ИВ измерений берут аликвоту, объемом 1,0 $см^3$.

1..2. Анализ кормов

Пробу корма готовят для анализа путем растворения навески корма в воде и высаливания белков избытком лимонной кислоты.

Для этого пробу корма растирают в фарфоровой ступке фарфоровым пестиком, затем навеску пробы массой 1,00 г, взятую с точностью до 0,001 г, переносят в колбу вместимостью 250,0 $см^3$, приливают 100,0 $см^3$ дистиллированной воды. Тщательно перемешивают, осадку дают отстояться. Раствор над осадком сливают в другую колбу и добавляют 1,0 г лимонной кислоты. Тщательно перемешивают и дают отстояться в течение 10 – 15 мин. Раствор над осадком переливают в центрифужную пробирку и центрифугируют 15 мин со скоростью 6000 об/мин. Центрифугат отфильтровывают через бумажный фильтр.

Для ИВ-измерений берут аликвоту фильтрата объемом 10,0 $см^3$.

1.3. При анализе проб кормов и витаминизированных подкормок «холостую» пробу делать не обязательно, так как витамин B_1 как загрязнение ни в реактивах, ни в воде не обнаружен. Посуда отмывается от витамина B_1 очень легко.

Таблица – Рекомендуемые навески и объемы аликвоты пробы

Объект анализа	Навеска пробы, г	Объем дистиллированной воды, $см^3$	Объем аликвоты, $см^3$
1. Витаминная подкормка для животных	0,2	50	1,0
2. Премиксы	0,5	50	1,0

3. Корма	1,0	100	10,0

2 Подготовка электродов и стаканчиков

Электроды:

- **индикаторный электрод** – *ртутно-пленочный на серебряной подложке* с толщиной пленки ртути 10 – 15 мкм и рабочей поверхностью 0,2 – 0,3 $см^3$;
- **электрод сравнения** – *хлоридсеребряный,* заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 30, кОм.
- **вспомогательный электрод** –. *хлоридсеребряный,* заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 30, кОм.

Сменные стаканчики из кварцевого стекла вместимостью 15–20 $см^3$.

Трубки тефлоновые для подвода инертного газа с целью удаления растворенного кислорода и перемешивания раствора.

Раствор фонового электролита - раствор лимонной кислоты концентрации 0,1 моль/$дм^3$

Приготовление раствора фонового электролита

Фоновый электролит – раствор лимонной кислоты концентрации 0,1 моль/$дм^3$

Навеску (19,23±0,01) г лимонной кислоты ($C_6H_8O_7$) помещают в мерную колбу вместимостью 1,0 $дм^3$, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

3 Проверка стаканчиков, раствора фонового электролита и электродов на чистоту при определении концентрации витамина B_1

3.1 Выбор или создание параметров определения

Для загрузки существующей методики в главном меню выбирают пункт **МЕТОДИКА/ОТКРЫТЬ.** В окне выбора файла выбирают необходимый файл методики и нажимают кнопку **ОТКРЫТЬ ФАЙЛ** (например, «Витамин_В1»).

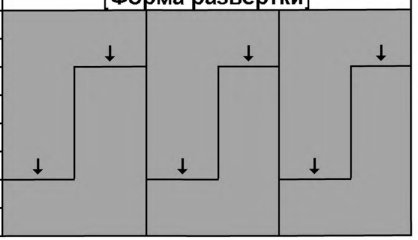
Создание новой методики. В главном меню выбирают пункт **Методика/Новая.** В окно редактирования вводят параметры согласно методике проведения количественного химического анализа.

Трасса

Методика
Наименование [**Витамин В 1**]

Трасса		Развертка	Режим		Элемент		Контроль
		Время, с	Потенциал, В		УФО	Газ	Мешалка
Y	**Подготовка раствора**	**60**	**-1,600**		-	Y	
Y	**Обработка раствора**	**10**	**-1,600**		-	Y	
Y	**Обработка электрода**	**10**	**0,000**	**-1,600**	-	Y	
Y	**Очистка электрода**	**10**	**-1,600**		-	Y	
Y	**Накопление**	**30**	**-0,800**		-	Y	
Y	**Успокоение**	**5**	**-0,800**				
Y	**Развертка**	**50 мВ/с**	**-0,800**	**-1,600**			

Развертка

Трасса	**Развертка**	Режим	Эле-мент	Контроль
Тип развертки	[**Импульсная**]	**[Форма развертки]**		
Диапазон тока	**0,3** мВ			
Шаг развертки	**8** мВ			
Задержка 1	**25** %			
Задержка 2	**85** %			
Начало импульса	**1** %			
Окончание импульса	**50** %			
Амплитуда	**- 40** мВ			
Накопление	**1**			

Режим

Трасса	Развертка	**Режим**	Элемент	Контроль
Y	Ячейка 1	Число опытов **[3]**	Фильтр 30	
Y	Ячейка 2			
Y	Ячейка 3	Схема **[3-х электродная]**		Инверсия по току
				Инверсия по потенциалу
			Y	**Первая производная**
Разметка			**Форма разметки**	
Ручная		**[Автомат]**	**[Линия]**	Сплайн

Элемент

Трасса	Развертка	Режим	**Элемент**	Контроль
	Имя	Потенциал, В	Зона, мВ	
1	**B1**	**-1,300**	**100**	
2		0,000	0,000	

Контроль

Трасса	Развертка	Режим	Элемент	**Контроль**
	Элемент	Относительный предел повторяемости, r, %		Характеристика погрешности, σ, %

1	**B1**	**28**	**32**

Сохраняют методику: в команде главного меню «**Сохранить методику**» или на панели управления (например «Определение витамина В1 в кормах»).

3.2 Измерение фона. В чистые кварцевые стаканчики, подготовленные по 1, с помощью пипетки или дозатора вносят по 10,0 $см^3$ раствор фонового электролита – **раствор лимонной кислоты концентрации 0,1 моль/$дм^3$**, стаканчики помещают в ячейку анализатора, опускают электроды.

Запускают команду «**ФОН**» (см. «Руководство пользователя» раздел «Запуск анализа фонового раствора»). Снимают 5 вольтамперограмм.

Проводят разметку полученных вольтамперограмм (см. «Руководство пользователя», раздел «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел «Обработка вольтамперных кривых»).

При наличии на вольтамперных кривых пиков определяемого компонента высотой более 0,1 мкА содержимое стаканчиков выливают, отмывают стаканчики и электроды по п.1 так, чтобы в чистом фоне отсутствовали пики определяемого компонента (или были менее 0,1 мкА). По окончании измерения фона содержимое стаканчиков не выливают.

3.3 Проверка работы ртутно-пленочных электродов по контрольной пробе (методом «введено-найдено»)

Проверку работы ртутно-пленочных электродов (РПЭ) проводят:

1) после нанесения пленки ртути на поверхность РПЭ;
2) при неудовлетворительной сходимости результатов анализа;
3) при отсутствии на вольтамперограммах пробы с добавкой пика определяемого компонента.

Вводят в стаканчики с раствором фонового электролитом 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина B_1 концентрации 1000,0 мг/$дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина B_1 равным 2,0 мг/$дм^3$ при объеме пробы 10,0 $см^3$.

Запускают команду «Получение вольтамперограмм пробы». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых (см. раздел «Обработка вольтамперных кривых»).

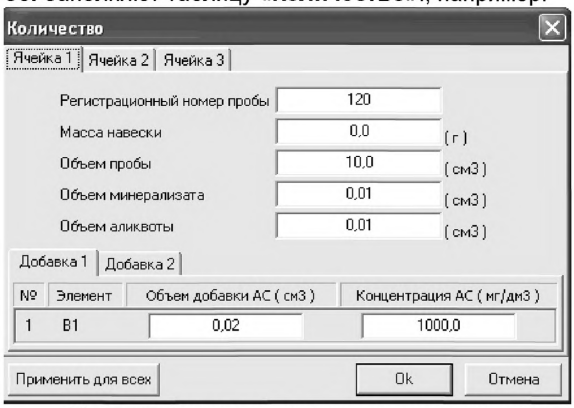
Измерение пробы с первой добавкой. Вводят в каждый стаканчик еще одну добавку аттестованного раствора витамина B_1 объемом 0,02 $см^3$

концентрации 1000,0 мг/дм^3. Запускают команду «Получение вольтамперограмм пробы с добавкой». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

Измерение пробы со второй добавкой. Вводят в каждый стаканчик еще одну добавку аттестованного раствора витамина В1 объемом 0,02 см^3 концентрации 1000,0 мг/дм^3. Запускают команду **«Получение вольтамперограмм пробы с 2-мя добавками»**. Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

В окне «Результаты измерения сигналов» отображаются результаты разметки для всех типов вольтамперограмм:

Расчет массовой концентрации компонента в контрольной пробе. Заполняют таблицу «**Количество**»., например:



Для перехода в таблицу «Концентрация» в главном окне на панели управления нажимают кнопку – **Окно просмотра результаты анализа.** (См. «Руководство пользователя», раздел «Вычисление концентрации»

Если расхождения между полученными и введенными концентрациями не превышают 30 %, ртутно-пленочные электроды считают пригодными к работе. В противном случае проверку ртутно-пленочных электродов следует повторить еще раз.

4 Анализ подготовленной для анализа пробы на содержание витамина B_1

Одновременно рекомендуется проводить анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

В проверенные на чистоту стаканчики по п.2 с раствором фонового электролита (раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного) объемом по 7 – 9 см^3 переносят аликвотную часть анализируемой пробы объемом по 1 – 3 см^3, подготовленной по разделу 8.5 «Подготовка проб» настоящей методики.

Запускают команду «Получение вольтамперограмм пробы». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их разметку, удаление «выпадающих» кривых».

В стаканчики с пробой с помощью пипетки или дозатора вносят добавки АС витамина В1 в таких объемах, чтобы высоты пиков на вольтамперограмме увеличились примерно в 2 раза (например 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина B_1 концентрации 1000,0 $мг/дм^3$).

Запускают команду **«Получение вольтамперограмм пробы с добавкой»**. Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку так же, как и при измерении пробы.

При необходимости в стаканчики с пробой вводят вторую добавку АС компонента, запускают команду **«Получение вольтамперограмм пробы с двумя добавками»**, снимают 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их обработку.

В окне «**Просмотр результатов измерения сигнала**» смотрят результаты разметки для всех типов вольтамперограмм во всех 3-х ячейках (после второй добавки).

Вычисление массовых концентраций витамина В1. В таблице «**Количество**» для каждой активной ячейки указывают: массу навески или объем пробы, объем минерализата, пошедший на растворение озолённой пробы, и объем аликвотной части подготовленной к анализу пробы.

Нажимают кнопку «**Окно просмотра результатов анализа»** в главном окне на панели управления.

В таблице представлены значения массовых концентраций витамина B_1 для каждой из параллельных проб. Нажимают кнопку [**Приемлемость**], в случае, когда результаты измерений параллельных проб приемлемы, вычисляется среднее арифметическое значение, которое принимают за результат анализа.

5. Сохранение документа. Для сохранения документа на панели управления нажимают кнопку «**Сохранить файл архива (F6)»** или в главном меню выбирают пункт **Документ/Сохранить в архиве.** (См. «Руководство пользователя», раздел «Работа с документом»).

Для печати вольтамперных кривых на принтере нажимают кнопку «**Печать кривых вольтамперограмм»** или в главном меню выбирают пункт **Документ/Печать графиков** (См. «Руководство пользователя», раздел «Печать»).

Данные результата анализа могут быть распечатаны в виде протокола в формате Microsoft®Word по существующему шаблону отчета. Так

же возможно создание шаблона по требуемому типу оформления отчета (См. «Руководство пользователя»).

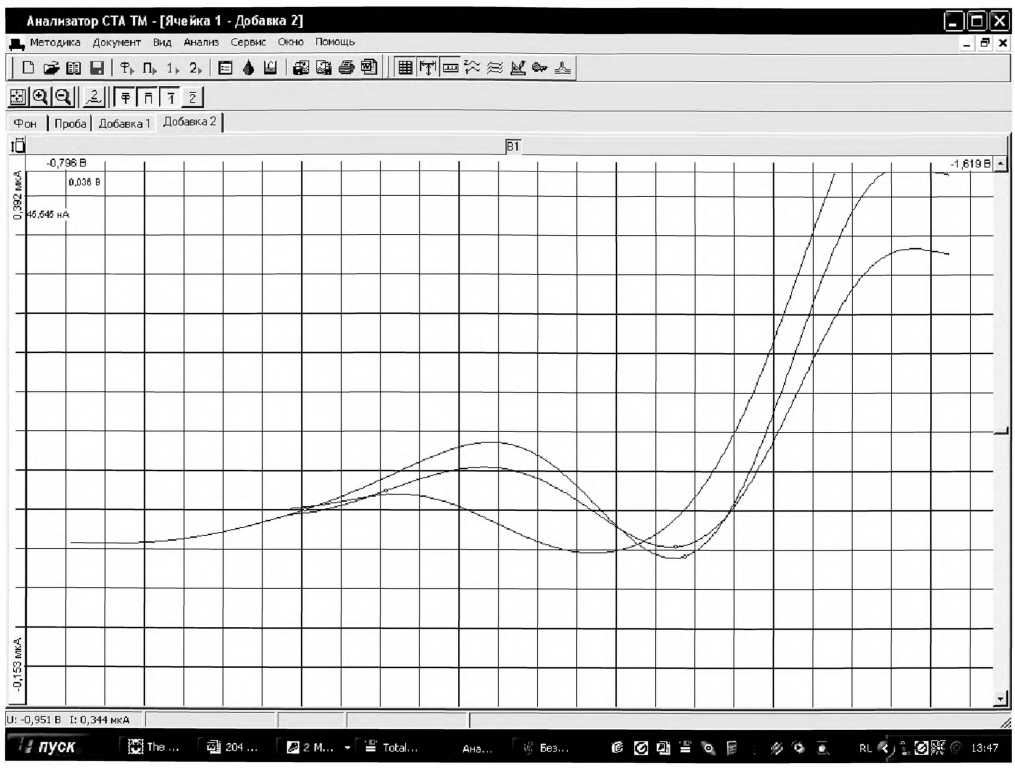


Рисунок 1. Вольтамперограммы фонового электролита, пробы и пробы с добавками АС компонента при определении массовой концентрации витамина B_1

gost.e-ecolog.ru