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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 14797— 2016

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение содержания фуразолидона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**(ISO 14797:1999,
Animal feeding stuffs — Determination of furazolidone content — Method using high-performance liquid chromatography,
IDT)**

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

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 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП») на основе официального перевода на русский язык англоязычной версии международного стандарта, указанного в пункте 5, который выполнен Федеральным государственным унитарным предприятием «Российский научно-технический центр информации по стандартизации, метрологии и оценке соответствия» (ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»)

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 4 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 31 августа 2016 г. № 90-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 октября 2016 г. № 1462-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 14797—2016 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2018 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 14797:1999 «Корма для животных. Определение содержания фуразолидона. Метод с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии» («Animal feeding stuffs — Determination of furazolidone content — Method using high-performance liquid chromatography», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 10 «Корма для животных» Технического комитета по стандартизации ТС 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001 (подраздел 3.6) для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

В настоящем стандарте заменены единицы измерения объема: «литр» на «дециметр кубический», «миллилитр» на «сантиметр кубический» — для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001, пункт 4.14.1.

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 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, 2016

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение содержания фуразолидона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Feeds, mixed feeds, feed raw material.
Determination of furazolidone content by method of high-performance liquid chromatography

Дата введения — 2018—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на корма, комбикорма, комбикормовое сырье и премиксы для животных и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения содержания фуразолидона.

Метод применим к кормам с содержанием фуразолидона от 25 до 5000 мг/кг и премиксам с массовой долей фуразолидона до 20 %.

Примечания

1 Содержание фуразолидона в кормах, комбикормах для животных и комбикормовом сырье выражают в миллиграммах на килограмм, а в премиксах — в процентах массовой доли.

2 Фуразолидон является химиотерапевтическим препаратом, принадлежащим к группе нитрофуранов. Нитрофураны являются бактериостатическими или бактерицидными препаратами, действующими против грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов и против некоторых плесеней и простейших.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на межгосударственные стандарты, которые являются обязательными. Для датированных ссылок применяют только указанное издание. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения).

ISO 6498:1998, Animal feeding stuffs — Preparation of test sample. (Корма для животных. Подготовка проб)*

3 Сущность метода

Фуразолидон экстрагируют из пробы смесью ацетонитрила и метанола. Пробу корма предварительно смачивают водой. Экстракт пробы очищают, пропуская через колонку, наполненную окисью алюминия, и затем разбавляют водой. Экстракт премикса разбавляют смесью воды, ацетонитрила и метанола. Конечный экстракт анализируют методом ВЭЖХ с обратной фазой с применением ультрафиолетового детектора при длине волны 365 нм [1]—[3].

* Стандарт заменен на ISO 6498:2012, однако, для однозначного соблюдения требования настоящего стандарта, выраженного в датированной ссылке, рекомендуется использовать только указанное в этой ссылке издание.

Издание официальное

4 Реактивы

При анализе используют реактивы только признанной аналитической чистоты.

4.1 Вода, деминерализованная или деионизированная, с удельным электрическим сопротивлением 10 мОм · см, или вода эквивалентной чистоты.

4.2 Растворитель для экстракции, смесь ацетонитрила с метанолом (в соотношении 1:1 по объему).

Соединяют равные объемы ацетонитрила и метанола. Тщательно перемешивают и перед использованием доводят до комнатной температуры.

4.3 Растворитель для разбавления, смесь растворителя для экстракции (см. 4.2) и воды (см. 4.1) (в соотношении 35:65 по объему).

Смешивают 350 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2) и 650 см^3 воды (см. 4.1).

4.4 Уксусная кислота (CH_3CO_2H) с объемной долей 10 %.

Доводят 10 см^3 ледяной уксусной кислоты водой (см. 4.1) до 100 см^3.

4.5 Буферный раствор ацетата натрия, $c(CH_3CO_2Na)$ = 0,01 моль/дм^3, pH = 6,0 ед. pH.

Взвешивают 0,82 г ацетата натрия и помещают в мерную колбу с одной отметкой вместимостью 1000 см^3. Растворяют в 700 см^3 воды. Регулируют значение pH до 6,0 ед. pH с помощью уксусной кислоты (см. 4.4). Доводят до метки водой и перемешивают.

4.6 Подвижная фаза для ВЭЖХ

Соединяют 800 см^3 буферного раствора ацетата натрия (см. 4.5) и 200 см^3 ацетонитрила и перемешивают. Фильтруют элюент через фильтр 0,22 мкм с помощью фильтровальной системы растворителя (см. 5.2) и перед применением дегазируют в течение 10 мин в ультразвуковой ванне (см. 5.3).

4.7 Стандартный образец фуразолидона*: N-(5-нитро-2-Фурфурилиден)-3-амино-2-оксазолидон.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Ввиду чувствительности фуразолидона к свету, все операции рекомендуется проводить в темноте. Необходимо избегать вдыхания и воздействия токсичного фуразолидона и растворов на его основе. Работу с ними следует проводить в вытяжном шкафу, а также надевать защитные очки и защитную одежду.

4.8 Исходный раствор фуразолидона (массовой концентрации приблизительно 250 мкг/см^3)

Взвешивают 25 ± 1 мг фуразолидона (см. 4.7) с записью результата до 0,1 мг и помещают в мерную колбу с одной отметкой вместимостью 100 см^3. Растворяют в растворителе для экстракции (см. 4.2), доводят до метки и перемешивают. Рассчитывают концентрацию с учетом чистоты стандартного образца. Готовят каждый месяц свежий раствор. Хранят в темном месте при температуре от 0 °С до 8 °С.

4.9 Рабочие растворы фуразолидона (массовой концентрации приблизительно 5 мкг/см^3 и 12,5 мкг/см^3)

4.10 Нейтральная окись алюминия, активность 1.

Примечание — Для полной дезактивации потребуется от 0 % до 1 % воды.

5 Оборудование

Используют следующее лабораторное оборудование:

5.1 pH-метр.

5.2 Система фильтрования растворителя, аппарат целиком из стекла, подходящий для фильтров 0,22 мкм.

5.3 Ультразвуковая ванна.

5.4 Роторный встряхиватель с горизонтальным вращением и частотой вращения от 250 до 300 об/мин.

5.5 Фильтр из микростекловолокна диаметром 15 см.

5.6 Стекловата.

5.7 Колонка для хроматографии стеклянная, длина 30 см, внутренний диаметр 10 мм, закрытая на конце стекловатой (см. 5.6).

5.8 Система фильтрования, оснащенная фильтрами из поли(винилиденфторида) (PVDF) или политетрафторэтилена (PTFE) с размером пор 0,45 мкм.

---

* Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта, номер CAS 67-45-8 согласно Реестру химических соединений Американского химического общества.

5.9 Система ВЭЖХ, включающая следующее:

5.9.1 Насос, без пульсаций, обеспечивающий объемную скорость подачи от 0,1 до 2,0 см^3/мин.

5.9.2 Система ввода пробы, с петлей, подходящая для инъекций от 20 до 50 мк/дм^3.

5.9.3 УФ-детектор, пригодный для измерений при длине волны 365 нм.

Для подтверждения можно использовать, если имеется, диодно-матричный детектор.

5.9.4 Устройство записывающее.

5.9.5 Предколонка: заполнена силикгелем C_{18}, размер частиц от 37 до 100 мкм, длина предколонки 20 мм, внутренний диаметр 3,9 мм или предколонка с аналогичными характеристиками.

5.9.6 Колонка аналитическая: заполнена силикгелем C_{18}, размер частиц 5 мкм, длина колонки 200 мм, внутренний диаметр 3,0 мм или аналитическая колонка с аналогичными характеристиками.

Для фуразолидона коэффициент емкости K' должен составлять не менее 1,0.

Примечание — Коэффициент емкости определяют по формуле

$$K' = \frac{t_R}{t_0} - 1, \quad (1)$$

где K' — коэффициент емкости;

t_R — время удерживания фуразолидона, мин;

t_0 — время удерживания неадсорбируемого фуразолидона, мин.

5.10 Шприц однократного применения вместимостью 5 см^3.

6 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, устанавливаемого настоящим стандартом.

Рекомендуемый метод отбора проб описан в ISO 6497 [4].

Важно, чтобы лаборатория получила пробу, которая действительно является представительной и не имеет повреждений или изменений, полученных в ходе транспортирования или хранения.

7 Подготовка пробы

Пробу готовят в соответствии с ISO 6498.

Лабораторную пробу (600 г) измельчают так, чтобы она полностью проходила через сито с размером стороны ячейки 1 мм. Тщательно перемешивают.

8 Проведение анализа

8.1 Общие положения

Вместе с анализом пробы (или серии проб) анализируют холостую пробу, холостую пробу с дополнительно введенным контрольным веществом и, если имеется, стандартный образец.

Примечание — Холостыми пробами являются гомогенаты сопоставимых кормов с содержанием фуразолидона менее 10 мг/кг. Холостые пробы с дополнительно введенным контрольным веществом представляют собой холостые пробы кормов, к которым добавляют фуразолидон. Холостые пробы и стандартные образцы можно хранить в течение одного года при температуре от 0 °С до 8 °С.

Если восстановление меньше 94 % или выше 106 %, анализ следует повторить.

8.2 Приготовление холостой пробы с дополнительно введенным контрольным веществом — фуразолидоном

Содержание фуразолидона в пробе с дополнительно введенным контрольным веществом должно быть приблизительно равно ожидаемому содержанию фуразолидона в анализируемой пробе. Для пробы с дополнительно введенным контрольным веществом с содержанием фуразолидона 250 мг/кг используют следующую процедуру.

Пипеткой переносят 5,0 см^3 исходного раствора фуразолидона (см. 4.8) в коническую колбу вместимостью 250 см^3. В токе азота выпаривают раствор примерно до объема 0,5 см^3 и добавляют 5 г холостой пробы корма. Тщательно перемешивают и перед началом экстракции дают отстояться в течение не менее 10 мин (см. 8.3).

8.3 Экстракция

8.3.1 Корма с содержанием фуразолидона от 25 до 2500 мг/кг включительно

Навеску (5,00 ± 0,05) г подготовленной анализируемой пробы помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3. Добавляют 15,0 см^3 воды и дают отстояться в течение 5 мин. Добавляют 35,0 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2), закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение 30 мин на роторном встряхивателе (см. 5.4). Раствор фильтруют через фильтр из микростекловолокна (см. 5.5) и используют фильтрат для хроматографии на колонке согласно 8.4.

8.3.2 Корма с содержанием фуразолидона свыше 2500 до 5000 мг/кг включительно

Навеску (5,0 ± 0,1) г подготовленной анализируемой пробы помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3. Добавляют 30,0 см^3 воды и дают отстояться в течение 5 мин. Добавляют 70,0 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2), закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение 30 мин на роторном встряхивателе (см. 5.4). Раствор фильтруют через фильтр из микростекловолокна (см. 5.5) и используют фильтрат для хроматографии на колонке согласно 8.4.

8.3.3 Премиксы с массовой долей фуразолидона от 0,5 % до 7 % включительно

Навеску (1,00 ± 0,01) г подготовленной анализируемой пробы премикса помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3. Добавляют 100,0 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2), закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение 30 мин на роторном встряхивателе (см. 5.4). Раствор фильтруют через фильтр из микростекловолокна (см. 5.5).

Разбавляют фильтрат растворителем для разбавления (см. 4.3), чтобы получить конечный раствор с массовой концентрацией фуразолидона от 5 до 10 мкг/см^3. Коэффициент разбавления *f*.

Тщательно перемешивают и фильтруют с помощью системы фильтрования (см. 5.8). Фильтрат используют для анализа ВЭЖХ согласно 8.5.

Примечание — Требуемый коэффициент разбавления *f* вычисляют по формуле

$$f_e = \frac{m \cdot w_{exp}}{V \cdot \rho_r}, \qquad (2)$$

где f_e — рассчитанный коэффициент разбавления, который требуется для экстракта пробы;

m — масса навески, г;

w_{exp} — ожидаемое содержание фуразолидона в пробе, мг/кг;

ρ_r — требуемая концентрация фуразолидона в конечном растворе, мкг/см^3;

V — общий объем растворителя для экстракции, добавленного к навеске (см. примечание к 8.5.2), см^3.

8.3.4 Премиксы с массовой долей фуразолидона свыше 7 % до 10 % включительно

Навеску (1,00 ± 0,01) г подготовленной анализируемой пробы премикса помещают в коническую колбу вместимостью 500 см^3. Добавляют 200,0 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2), закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение 30 мин на роторном встряхивателе (см. 5.4). Раствор фильтруют через фильтр из микростекловолокна (см. 5.5).

Разбавляют фильтрат растворителем для разбавления (см. 4.3), чтобы получить конечный раствор с массовой концентрацией фуразолидона от 5 до 10 мкг/см^3. Вычисляют коэффициент разбавления *f*.

Тщательно перемешивают и фильтруют с помощью системы фильтрования (см. 5.8). Фильтрат используют для анализа ВЭЖХ согласно 8.5.

Примечание — Вычисление коэффициента разбавления — по примечанию к 8.3.3.

8.3.5 Премиксы с массовой долей фуразолидона от 10 % до 20 % включительно

Навеску (0,500 ± 0,005) г подготовленной анализируемой пробы премикса помещают в коническую колбу вместимостью 500 см^3. Добавляют 200,0 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2), закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение 30 мин на роторном встряхивателе (см. 5.4). Раствор фильтруют через фильтр из микростекловолокна (см. 5.5).

Разбавляют фильтрат растворителем для разбавления (см. 4.3), чтобы получить конечный раствор с массовой концентрацией фуразолидона от 5 до 10 мкг/см^3. Вычисляют коэффициент разбавления *f*.

Тщательно перемешивают и фильтруют с помощью системы фильтрования (см. 5.8). Фильтрат используют для анализа ВЭЖХ согласно 8.5.

Примечание — Вычисление коэффициента разбавления по примечанию к 8.3.3.

8.4 Хроматография на колонке

Для каждого экстракта пробы сушат наполнитель стеклянной колонки (см. 5.7), нижняя часть которой закрыта пробкой из стекловаты (см. 5.6) с помощью 4 г окиси алюминия (см. 4.10). В колонку вводят 20 см^3 экстракта, подготовленного в соответствии с 8.3.1 или 8.3.2, и первые 4 см^3 элюата отбрасывают. Собирают следующие 8 см^3 элюата в небольшой мерный цилиндр.

Пипеткой переносят 5,0 см^3 элюата в мерную колбу с одной отметкой вместимостью 5 см^3 и доводят до метки водой. Тщательно перемешивают.

При необходимости раствор разбавляют растворителем для разбавления (см. 4.3), чтобы получить конечный раствор с массовой концентрацией фуразолидона от 5 до 10 мкг/см^3. Вычисляют коэффициент разбавления *f*.

Разбавленные растворы фильтруют с помощью системы фильтрования (см. 5.8). Фильтрат используют для анализа методом ВЭЖХ согласно 8.5.

8.5 Анализ методом ВЭЖХ

8.5.1 Условия проведения ВЭЖХ

Используют следующие условия проведения ВЭЖХ:

- объемная скорость подачи подвижной фазы (см. 4.6): 0,6 см^3/мин;
- объем вводимой пробы: 20 мк/дм^3;
- длина волны: 365 нм;
- регистрирующее устройство: 10 мВ;
- скорость диаграммной ленты: 0,5 см/мин.

8.5.2 Проведение анализа

8.5.2.1 Вводят рабочие растворы фуразолидона (см. 4.9), пока не получат стабильную базовую линию и воспроизводимые высоты пиков или площади пиков. Для высоты или площади пика разность между наибольшим и наименьшим результатом должна быть меньше 5 % от среднего результата трех последовательных вводов проб.

Пик фуразолидона должен быть симметричным (f_{as} менее 2).

Примечание — f_{as} — полуширина пика за перпендикулярной линией (высотой) пика, деленная на полуширину пика перед перпендикулярной линией (высотой) пика, измеренные на 10 % высоты этого пика.

Должна иметься пропорциональная связь (в пределах 5 %) между концентрацией и высотами пиков двух рабочих растворов фуразолидона. Если обнаружено расхождение, превышающее 5 %, необходимо приготовить новые рабочие растворы фуразолидона.

Вводят экстракты холостой пробы и холостой пробы с введенным контрольным веществом. Если пик фуразолидона несимметричен или не полностью отделяется от пиков матрицы — корма, необходимо использовать другую колонку ВЭЖХ или отрегулировать хроматографические условия, увеличив или уменьшив содержание воды в подвижной фазе (см. 4.6).

Последовательно вводят рабочие растворы фуразолидона (см. 4.9), пять экстрактов пробы и рабочие растворы фуразолидона (см. 4.9). Повторяют эту последовательность, если необходимо, для других экстрактов проб в серии.

Наблюдаемые высоты пиков или площади пиков для рабочих растворов фуразолидона должны попасть в интервал 5 % от результатов рабочих растворов фуразолидона, введенных раньше.

Пример хроматограммы представлен в приложении А. По хроматограмме фуразолидона можно рассчитать значение коэффициента емкости *K'*, равное 2,1 (см. примечание к 5.9.6).

8.5.2.2 Если содержание фуразолидона в премиксе очевидно ниже, чем ожидаемое (с учетом допуска), то рекомендуется повторить анализ с дополнительным объемом 50 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2) к примененному в 8.3.3, 8.3.4 или 8.3.5.

Если новый результат более чем на 15 % выше первоначального значения, анализ следует повторить со следующим дополнительным объемом 50 см^3 растворителя для экстракции (см. 4.2). Такое добавление следует повторять, пока расхождение результатов последовательных определений не будет менее 15 %.

9 Подтверждение

9.1 Общие положения

Если идентичность вещества, давшего пик на хроматограмме, вызывает сомнения, основанные на форме пика или полученном результате, то идентичность определенного аналита подтверждают либо

применением совместной хроматографии, либо с помощью диодно-матричного детектора. В первом случае поступают по 9.2, во втором случае — по 9.3.

9.2 Совместная хроматография

Готовят экстракт пробы с введенным контрольным веществом, добавляя соответствующий объем рабочего раствора фуразолидона (см. 4.9) в экстракт пробы. Количество добавленного фуразолидона должно приблизительно равняться предполагаемому количеству фуразолидона в экстракте пробы.

Анализируют экстракт пробы, рабочий раствор фуразолидона (см. 4.9) и экстракт пробы с введенным контрольным веществом. На хроматограмме пик экстракта пробы с введенным контрольным веществом должен увеличиваться, при этом его высота должна увеличиться пропорционально уровню добавленного вещества, а ширина пика на середине высоты должна увеличиться не более чем на ±10 % от первоначальной ширины.

Далее определяют содержание фуразолидона в соответствии с разделом 10.

9.3 Диодно-матричный детектор

9.3.1 Условия

Условия установлены в 8.5.1, но вместо УФ-детектора используют диодно-матричный детектор со следующими параметрами:

Наименование параметра	Значение параметра
Длина волны пробы	365 нм;
Ширина полосы пробы	4 мм (т. е. длина волны (365 ± 2) нм);
Опорная длина волны	450 нм;
Опорная ширина полосы	100 нм;
Спектральный диапазон	от 225 до 400 нм;
Спектр	базовая линия, верхняя точка, точки перегиба наклона вверх и наклона вниз.

9.3.2 Проведение анализа

Дают системе стабилизироваться. Вводят рабочий раствор фуразолидона массовой концентрации 5 мкг/см^3 (см. 4.9), вызывающие сомнение экстракты проб и снова рабочий раствор фуразолидона массовой концентрации 5 мкг/см^3 (см. 4.9). Записывают спектр у базовой линии, точки перегиба вверх по наклону и вниз по наклону и вершину пика. Хранят все данные.

9.3.3 Оценка

Строят на одном рисунке нормализованные разностные спектры (проба — базовая линия) пика пробы, записанного у вершины и в точках перегиба вверх по наклону и вниз по наклону. Строят на одном рисунке нормализованные спектры пика пробы и пика рабочего раствора фуразолидона, записанные в вершине пика.

9.3.4 Критерии подтверждения

Идентичность фуразолидона подтверждается, если удовлетворены следующие критерии:

a) Время удерживания пробы должно быть равно времени удерживания стандарта (±5 %). Если возникают сомнения, необходимо выполнить добавление стандарта (добавление к пробе стандартного образца).

b) Оценивают чистоту пика пробы на основе соответствия разностных спектров, записанных в верхней точке и в точках перегиба вверх по наклону и вниз по наклону пика. При каждой длине волны относительное поглощение должно быть равно для всех спектров (в пределах до 15 %).

c) При длине волны выше 220 нм разностные спектры пиков пробы и стандарта, записанные в верхней точке пика, не должны визуально отличаться для тех частей спектров, где относительное поглощение составляет не менее10 %. Этот критерий удовлетворяется, когда одни и те же максимумы присутствуют в пределах интервала, определенного разрешением системы детектирования (обычно от 2 до 4 нм). Ни в одной из наблюдаемых точек не допускается превышение отклонения 15 % от поглощения анализируемого стандарта при данной конкретной длине волны более чем на 15 %.

10 Обработка результатов

10.1 Общие положения

Определяют содержание фуразолидона в экстракте пробы сопоставлением высоты пика (или площади пика) хроматограммы экстракта пробы со средними значениями высот или площадей рабочего раствора фуразолидона, введенного до и после экстракта пробы. Используют результаты, полученные с рабочим раствором фуразолидона, более близкие по содержанию фуразолидона.

10.2 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье с содержанием фуразолидона от 25 до 5000 мг/кг включительно

Вычисляют содержание фуразолидона в пробах w_f, мг/кг, по формуле

$$W_f = \frac{h}{h_s} \cdot \rho_s \cdot \frac{V}{m} \cdot f, \quad (3)$$

где h — высота пика, полученного для экстракта пробы, мм;

ρ_s — массовая концентрация фуразолидона в рабочем растворе, мг/см^3;

V — общий объем растворителя для экстракции, добавленный в анализируемую пробу, см^3;

f — коэффициент разбавления экстракта пробы (см. 8.4);

h_s — высота пика, полученного для рабочего раствора фуразолидона, мм;

m — масса навески, г.

Примечание — Альтернативно в расчетах вместо высоты пика можно использовать площадь пика.

Результат округляют до 1 мг/кг.

10.3 Премиксы с массовой долей фуразолидона до 20 % включительно

Вычисляют массовую долю фуразолидона в пробах премикса w_{fp}, %, по формуле

$$W_{fp} = \frac{h}{h_s} \cdot \rho_s \cdot \frac{V}{m} \cdot f \cdot 10^{-4} \cdot f_u, \quad (4)$$

где h — высота пика, полученного для экстракта пробы, мм;

ρ_s — массовая концентрация фуразолидона в рабочем растворе, мг/см^3;

V — общий объем растворителя для экстракции, добавленный в анализируемую пробу, см^3;

f — коэффициент разбавления экстракта пробы (см. 8.3.3, 8.3.4 или 8.3.5);

f_u — поправочный коэффициент единиц измерения, кг · мг$^{-1}$ % (f_u = 1 кг · мг$^{-1}$ %);

h_s — высота пика, полученного для рабочего раствора фуразолидона, мм;

m — масса навески, г.

Примечание — Альтернативно в расчетах вместо высоты пика можно использовать площадь пика.

Результат округляют до 0,01 %.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Сведения о межлабораторных испытаниях по установлению прецизионности метода приведены в приложении В. Значения, полученные в результате проведения этих межлабораторных испытаний, не могут быть применены к диапазонам концентраций и пробам, отличающимся от указанных в настоящем стандарте.

11.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух отдельных независимых испытаний, полученными при использовании одного и того же метода на одной лабораторной пробе в одной лаборатории одним и тем же оператором на одном и том же оборудовании в пределах короткого промежутка времени, более чем в 5 % случаев не должно превышать предел повторяемости r:

- 8 % от среднеарифметического значения результатов двух определений содержания фуразолидона от 80 до 300 мг/кг;
- 10 % от среднеарифметического значения результатов двух определений массовой доли фуразолидона от 4 % до 6 %.

11.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых испытаний, полученными при использовании одного и того же метода на идентичных пробах в разных лабораториях разными операторами на различных экземплярах оборудования, не должно превышать более чем в 5 % случаев предел воспроизводимости R:

- 17 % от среднеарифметического значения результатов двух определений содержания фуразолидона от 80 до 300 мг/кг;

- 20 % от среднеарифметического значения результатов двух определений массовой доли фуразолидона от 4 % до 6 %.

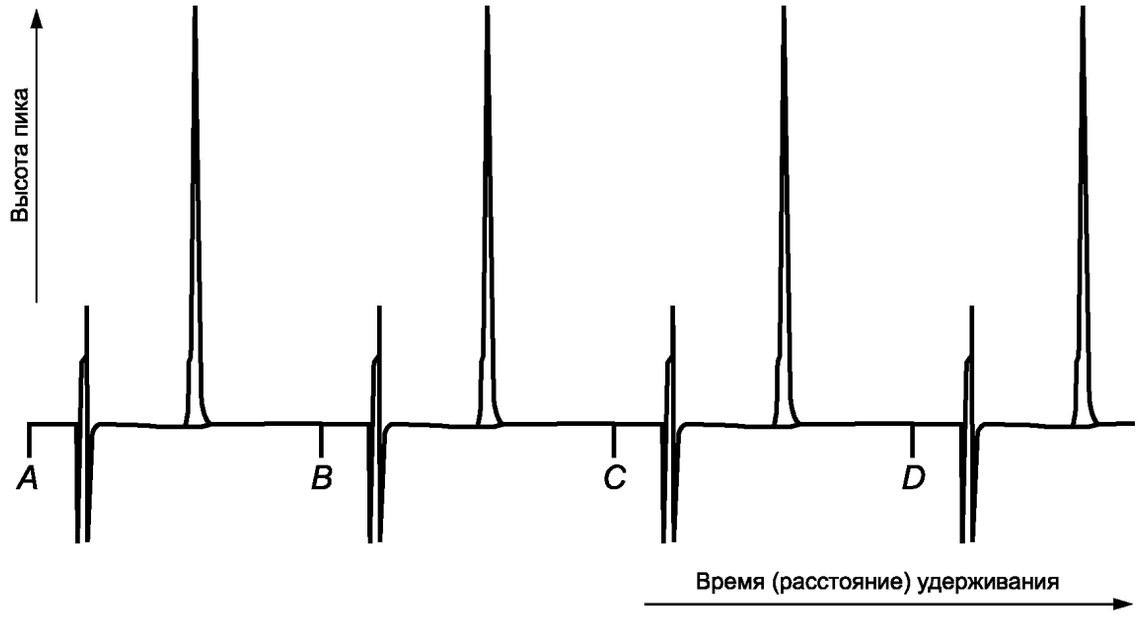
12 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать следующую информацию:

- все детали, необходимые для полной идентификации пробы;
- использованный метод отбора проб, если известен;
- использованный метод испытаний со ссылкой на настоящий стандарт;
- все детали операций, не установленных в настоящем стандарте или рассматриваемые как необязательные, наряду с описанием всех случаев, которые могли повлиять на результат(ы) испытаний;
- в случае определения повторяемости — конечный результат.

Приложение А
(справочное)

Пример хроматограммы



A — стандартный образец фуразолидона, 12,1 мкг/см^3; *B* — холостая проба;
C — холостая проба корма с введенным контрольным веществом, 242 мг/кг; *D* — проба (реальная)

Рисунок А.1

Приложение В
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

Прецизионность данного метода была установлена в межлабораторных испытаниях, выполненных в соответствии с ISO 5725 [5][1]. В этих испытаниях приняли участие 30 лабораторий из семи европейских стран, было испытано 14 проб (включая три холостые пробы). Пробы выбирали на основе информации об использовании материалов в ряде стран. Результаты приведены в таблицах В.1 и В.2.

Таблица В.1 — Статистические результаты межлабораторных испытаний кормов для животных

Параметр	Проба[1]						
	Pi6	Pi7	Ra9	Ch11	Ch12	Ca13	Fi14
Число лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	27	29	28	29	28	29	28
Среднее содержание фуразолидона, мг/кг	199	274	89	92	189	190	2853
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мг/кг	2,8	3,9	2,4	2,8	3,6	5,9	57,6
Коэффициент вариации повторяемости, %	1,4	1,4	2,7	3,0	1,9	3,1	2,0
Предел повторяемости r, ($r = 2{,}8\ s_r$), %	7,9	8,5	6,8	7,9	10,2	16,7	163,0
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мг/кг	9,9	12,1	6,9	7,4	10,6	13,6	173,4
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	5,0	4,4	7,7	8,0	5,6	7,1	6,1
Предел воспроизводимости R ($R = 2{,}8\ s_R$), мг/кг	28,0	34,2	19,5	22,4	28,9	47,3	490,0

[1] Pi6 — корм для свиней с содержанием сульфадимидина натрия 400 мг/кг;
Pi7 — корм для свиней;
Ra9 — корм для кроликов с содержанием робенидина 66 мг/кг и флавофосфолипола 4 мг/кг;
Ch11 — корм для бройлеров со средним содержанием жира, содержанием авопарцина 15 мг/кг и салиномицина натрия 60 мг/кг;
Ch12 — корм для бройлеров с высоким содержанием жира, содержанием авопарцина 15 мг/кг и салиномицина натрия 60 мг/кг;
Ca13 — заменитель молока для телят с содержанием хлортетрациклина 200 мг/кг;
Fi14 — корм для рыб.

Таблица В.2 — Статистические результаты межлабораторных испытаний премиксов для животных

Параметр	Проба[1]			
	P1	P2	P3	P4
Число лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	29	29	29	29
Среднее содержание фуразолидона, мг/кг	3,89	6,21	3,72	19,9
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мг/кг	0,14	0,20	0,22	0,38
Коэффициент вариации повторяемости, %	3,6	3,2	5,9	1,9
Предел повторяемости r ($r = 2{,}8\ s_r$), %	0,40	0,57	0,62	1,08
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мг/кг	0,26	0,45	0,30	0,82
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	6,58	7,23	8,05	4,13
Предел воспроизводимости R ($R = 2{,}8\ s_R$), мг/кг	0,74	1,27	1,75	2,32

[1] P1 и P2 — премиксы на основе кукурузной муки в качестве наполнителя;
P3 — премиксы на основе кукурузной муки в качестве наполнителя, с массовой долей сульфадимидина натрия 8 %;
P4 — премиксы на основе карбоната кальция в качестве наполнителя.

[1] ISO 5725:1986 (в настоящее время отменен) был использован для получения показателей прецизионности.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 6498:1998	MOD	ГОСТ 31218—2003 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб»
ISO 6498:2012	IDT	ГОСТ ISO 6498—2014 «Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний»

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов:
- IDT — идентичный стандарт;
- MOD — модифицированный стандарт.

Библиография

[1] Keukens, H.J., Aerts, M.M.L. and Strating, K. (1994) (in press)
[2] SOP A0520, State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO), Agricultural Research Department, The Netherlands
[3] Lowie, Jr., D.M., Teague, Jr., R.T., Quick, F.E. and Foster, C.L. J. AOAC, 66, 1983, pp. 602—605
[4] ISO 6497:2002, Animal feeding stuffs — Sampling
[5] ISO 5725:1986, Precision of test methods — Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests
[6] ISO 5725-1:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions
[7] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basicmethod for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method

УДК 636.085.3:006.35 МКС 65.120 IDT

Ключевые слова: корма, комбикорма, комбикормовое сырье, премиксы, испытание, холостая проба, навеска, содержание, массовая доля, фуразолидон, высокоэффективная жидкостная хроматография, подтверждение, оценка

Редактор *Н.Н. Мигунова*
Технический редактор *В.Ю. Фотиева*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 24.10.2016. Подписано в печать 14.11.2016. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68. Тираж 39 экз. Зак. 2795.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru