ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 56375— 2015

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли хлорид-, сульфат-, нитрат- и фосфат-ионов методом капиллярного электрофореза

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

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

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 марта 2015 г. № 191-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2015

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Сущность метода 2
4 Требования безопасности 2
5 Требования к проведению испытаний 3
6 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы 3
7 Отбор проб 4
8 Подготовка к проведению испытаний 4
9 Проведение испытаний 8
10 Обработка результатов испытаний 10
11 Контроль точности результатов испытаний 11
Приложение А (справочное) Примеры электрофореграмм 12

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли хлорид-, сульфат-, нитрат- и фосфат-ионов методом капиллярного электрофореза

Feedstuffs, compound feeds, feed raw materials. Determination of mass fraction of chloride, sulfate, nitrate and phosphate ions using capillary electrophoresis

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на корма, комбикорма и комбикормовое сырье и устанавливает метод определения массовой доли хлорид-, сульфат-, нитрат- и фосфат-ионов (далее анионов) с использованием капиллярного электрофореза в следующих диапазонах измерений:

- хлорид-ионов — от 0,005 % до 60,00 % включ.;
- сульфат-ионов — от 0,005 % до 70,00 % включ.;
- нитрат-ионов — от 0,002 % до 1,00 % включ.;
- фосфат-ионов — от 0,005 % до 80,00 % включ.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

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

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

ГОСТ 12.2.007.0—75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

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

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

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

ГОСТ 16317—87 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3776—78 Реактивы. Хрома (VI) оксид. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ ISO 7886-1—2011 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

ГОСТ 13586.3—83 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

Издание официальное

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

ГОСТ 17681—82 Мука животного происхождения. Методы испытаний

ГОСТ 21138.1—85 Мел. Метод определения массовой доли водорастворимых веществ

ГОСТ 24596.1—81 Фосфаты кормовые. Методы отбора и подготовки проб для анализа

ГОСТ 24596.4—81 Фосфаты кормовые. Методы определения кальция

ГОСТ 27668—88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб

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

ГОСТ 28311—89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

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

ГОСТ Р 12.1.019—2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

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

ГОСТ Р ИСО 6497—2011 Корма для животных. Отбор проб

ГОСТ Р 51419—99 (ИСО 6498—98) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб

ГОСТ Р 51420—99 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Спектрометрический метод определения массовой доли фосфора

ГОСТ Р 51421—99 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение массовой доли водорастворимых хлоридов

ГОСТ Р 52482—2005 Соль поваренная пищевая. Отбор и подготовка проб. Определение органолептических показателей

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов, в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Сущность метода заключается в извлечении из проб хлорид- и нитрат-ионов дистиллированной водой, сульфат- и фосфат-ионов раствором соляной кислоты, дальнейшем разделении анионов, вследствие различий их электрофоретической подвижности в процессе миграции по кварцевому капилляру в электролите под действием электрического поля, с последующей регистрацией разницы оптического поглощения фоновым электролитом и анионами в ультрафиолетовой области спектра и вычислении массовой доли хлорид-, нитрат-, сульфат- и фосфат-ионов.

4 Требования безопасности

4.1 При выполнении испытаний необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с

электроприборами по ГОСТ 12.2.007.0 и ГОСТ Р 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на используемые приборы.

4.2 Работа с химическими реактивами должна проводиться в вытяжном шкафу.

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

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

5 Требования к проведению испытаний

5.1 Условия проведения испытаний

При подготовке и проведении испытаний должны быть соблюдены следующие условия:

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

5.2 Требования к квалификации оператора

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

6 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

6.1 Средства измерений

6.1.1 Система капиллярного электрофореза (далее — прибор) с источником высокого напряжения отрицательной полярности, оснащенная кварцевым капилляром с общей длиной не менее 50 см и внутренним диаметром от 50 до 75 мкм, фотометрическим или спектрофотометрическим детектором, позволяющим проводить измерения при длине волны от 250 до 380 нм, и компьютером с программным обеспечением для регистрации и обработки электрофореграмм.

6.1.2 Весы неавтоматического действия с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,001 г по ГОСТ Р 53228 и весы неавтоматического действия специального класса точности с пределами допускаемой погрешности не более ±0,0005 г (100,0 ± 0,5) мг по ГОСТ R OIML 76-1.

6.1.3 Колбы мерные 2(2а)—25(50, 100)—2 по ГОСТ 1770.

6.1.4 Цилиндры мерные 1(2, 3, 4)—100(250)—2 по ГОСТ 1770.

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

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

6.1.7 Стандартные образцы (СО) состава водных растворов анионов с погрешностью аттестованного значения не более ±1,0 %:

- хлорид-ионов массовой концентрации 1 мг/см^3;
- сульфат-ионов массовой концентрации 1 мг/см^3;
- нитрат-ионов массовой концентрации 1 мг/см^3;
- фосфат-ионов массовой концентрации 0,5 мг/см^3.

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

6.2 Вспомогательные устройства и материалы

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

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

6.2.3 Шкаф сушильный с рабочей температурой не ниже 150 °С и точностью поддержания температуры не более ±2 °С.

6.2.4 Аппарат для встряхивания.

6.2.5 Холодильник бытовой по ГОСТ 16317.

6.2.6 Вентилятор бытовой, обеспечивающий поток теплого воздуха.

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

6.2.8 Виалы с завинчивающимися термостойкими крышками и фторопластовыми вкладышами вместимостью 15—25 $см^3$ для кислотной обработки проб.

6.2.9 Виалы с завинчивающими крышками для хранения растворов вместимостью 10—40 $см^3$.

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

6.2.11 Бюксы стеклянные вместимостью 10—15 $см^3$.

6.2.12 Стаканы В—1(2)—50(100, 250, 500) ТХС по ГОСТ 25336.

6.2.13 Колбы Кн—1—50—14/23 ТХС по ГОСТ 25336.

6.2.14 Шприцы медицинские одноразовые вместимостью 10 (20) $см^3$ по ГОСТ ISO 7886-1.

6.2.15 Фильтры обеззоленные «синяя лента».

6.2.16 Фильтры целлюлозно-ацетатные с размером пор 0,2 мкм, диаметром 25 мм.

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

6.3 Реактивы

6.3.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

6.3.2 Гидроокись натрия по ГОСТ 4328, х. ч.

6.3.3 Соляная кислота по ГОСТ 3118, х. ч.

6.3.4 Оксид хрома (VI) по ГОСТ 3776, ч. д. а.

6.3.5 Цетилтриметиламмония гидроксид (гексадецилтриметиламмония гидроксид, ЦТА-ОН), водный раствор с массовой долей 10 %.

6.3.6 Диэтаноламин (бис(2-оксиэтил)амин, ДЭА) с массовой долей основного вещества не менее 98,5 %. Реактив хранят в морозильной камере.

Примечание — Допускается использование других реактивов аналогичной или более высокой квалификации по качеству не ниже указанных.

7 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ Р ИСО 6497, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 13979.0, ГОСТ 17681, ГОСТ 27668.

8 Подготовка к проведению испытаний

8.1 Подготовка проб

Подготовка проб к испытанию — по ГОСТ Р 51419.

8.2 Подготовка лабораторной посуды

8.2.1 Лабораторную посуду моют разбавленным раствором щелочи, например, 1 %-ным раствором гидроокиси натрия, без применения других моющих средств, тщательно промывают водопроводной и многократно ополаскивают дистиллированной водой. Не рекомендуется использовать для мытья концентрированную серную или азотную кислоту. Запрещается использовать для мытья посуды хромовую смесь.

8.2.2 Все наконечники и пробирки типа Эппендорф используются однократно. Запрещается погружать наконечник во весь объем раствора.

8.3 Подготовка капилляра к работе

8.3.1 Подготовка нового капилляра

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

8.3.2 Ежедневная подготовка капилляра к работе

Перед проведением измерений капилляр последовательно промывают дистиллированной водой (см. 6.3.1) в течение 3 мин, раствором гидроокиси натрия (см. 8.4.2) — 5 мин, дистиллированной водой — 5 мин, затем фоновым электролитом (см. 8.4.7) — 5 мин.

Для проверки состояния капилляра контрольный раствор (см. 8.5.6) дважды анализируют в условиях, указанных в таблице 2. При этом в первую очередь обращают внимание на стабильность времен миграции анионов.

8.3.3 Подготовка капилляра между измерениями и в конце рабочего дня

Непосредственно перед проведением измерений капилляр промывают фоновым электролитом (см. 8.4.7) в течение 2 мин.

После проведения измерения капилляр промывают фоновым электролитом (см. 8.4.7) в течение 3 мин.

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

- увеличить продолжительность промывания капилляра фоновым электролитом между измерениями;
- заменить фоновый электролит в пробирках на входе и на выходе другими порциями;
- промыть капилляр в следующей последовательности: дистиллированной водой в течение 3 мин, раствором гидроокиси натрия (см. 8.4.2) — 5 мин, дистиллированной водой — 5 мин и фоновым электролитом (см. 8.4.7) — 5 мин.

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

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

8.4 Приготовление растворов

8.4.1 Все растворы, указанные в 8.4 и 8.5, готовят на дистиллированной воде (см. 6.3.1). Проверку качества дистиллированной воды проводят по 8.6.1.

Если дистиллированная вода не соответствует необходимым требованиям качества, то растворы готовят на бидистиллированной или деионизованной воде.

8.4.2 Приготовление раствора гидроокиси натрия для промывки капилляра

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

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

8.4.3 Приготовление раствора соляной кислоты для промывки капилляра

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

Срок хранения раствора при комнатной температуре не ограничен.

8.4.4 Приготовление раствора оксида хрома (VI) молярной концентрации 0,05 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,50 ± 0,01) г оксида хрома (VI) (см. 6.3.4), добавляют дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения, затем доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в стеклянной емкости с притертой пробкой или плотно закрытом полиэтиленовом сосуде при комнатной температуре — не более 6 мес.

Примечание — Оксид хрома (VI) является весьма гигроскопичным веществом, которое нельзя высушить. В связи с этим, если препарат долго хранился, рекомендуется предварительно определить содержание основного вещества в реактиве кислотно-основным или окислительно-восстановительным титрованием.

8.4.5 Приготовление раствора диэтаноламина (ДЭА) молярной концентрации 0,1 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают (0,263 ± 0,001) г диэтаноламина (см. 6.3.6), предварительно замороженного до кристаллического состояния, добавляют дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения, затем доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в условиях, полностью исключающих поглощение двуокиси углерода из воздуха, при комнатной температуре — не более 2 недель.

8.4.6 Раствор цетилтриметиламмония гидроксида (ЦТА-ОН) молярной концентрации 0,01 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 4—5 см^3 дистиллированной воды, добавляют 0,75 см^3 10 %-ного ЦТА-ОН (см. 6.3.5), доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 6 мес.

8.4.7 Приготовление фонового электролита

В стакане вместимостью 50 см^3 смешивают 2,0 см^3 раствора оксида хрома (VI) (см. 8.4.4), 3,0 см^3 ДЭА (см. 8.4.5), 2,0 см^3 дистиллированной воды, тщательно перемешивают, добавляют 3,0 см^3 ЦТА-ОН (см. 8.4.6) и перемешивают. Сразу после смешивания раствор фильтруют через целлюлозно-ацетатный фильтр в пластиковую емкость с завинчивающейся крышкой.

Приготовленный раствор содержит 10 ммоль/дм^3 оксида хрома (VI), 30 ммоль/дм^3 ДЭА и 3 ммоль/дм^3 ЦТА-ОН.

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

Примечания

1 Запрещается изменять порядок добавления реагентов.

2 Из-за поглощения фоновым электролитом двуокиси углерода из воздуха может уменьшаться значение pH в растворе, при pH < 8,7 возможно образование осадка гидрохромата цетилтриметиламмония. В этом случае необходимо заново приготовить раствор диэтаноламина и фонового электролита.

8.4.8 Приготовление раствора соляной кислоты, разбавленной в соотношении 1:1 по объему

В стакане вместимостью 500 см^3 смешивают 250 см^3 концентрированной соляной кислоты с равным объемом дистиллированной воды.

Срок хранения раствора при комнатной температуре не ограничен.

8.5 Приготовление градуировочных и контрольного растворов

8.5.1 Рекомендуемые значения массовых концентраций хлорид-, сульфат-, нитрат- и фосфат-ионов градуировочных и контрольного растворов

Градуировочные и контрольный растворы хлорид-, сульфат-, нитрат- и фосфат-ионов готовят по 8.5.2—8.5.6. Значения массовой концентрации анионов в растворах приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Значения массовой концентрации анионов в градуировочных и контрольном растворе

В миллиграммах на кубический дециметр

Наименование аниона	Массовая концентрация анионов				
	в градуировочном растворе				в контрольном растворе
	№ 1	№ 2	№ 3	№4	
Хлорид-ион	50	10	2,0	0,5	25
Сульфат-ион	50	10	2,0	0,5	25
Нитрат-ион	10	2,0	0,4	—	5
Фосфат-ион	50	10	2,0	0,5	25

Допускается использование градуировочных и контрольного растворов, содержащих меньшее количество определяемых анионов в других концентрациях, соответствующих диапазону градуировочной характеристики (см. 8.6.2).

8.5.2 Приготовление градуировочного раствора № 1

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают СО состава раствора (см. 6.1.7) по 2,5 см^3 хлорид- и сульфат-ионов, 5,0 см^3 фосфат-ионов, 0,5 см^3 нитрат-ионов, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С — не более двух недель.

8.5.3 Приготовление градуировочного раствора № 2

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 5,0 см^3 градуировочного раствора № 1 (см. 8.5.2) и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

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

8.5.4 Приготовление градуировочного раствора № 3

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 5,0 см^3 градуировочного раствора № 2 (см. 8.5.3) доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Раствор используют в день приготовления.

8.5.5 Приготовление градуировочного раствора № 4

В виалу вместимостью 10 см^3 помещают 1,0 см^3 градуировочного раствора № 3 (см. 8.5.4) и 3,0 см^3 дистиллированной воды и тщательно перемешивают.

Раствор используют в день приготовления.

8.5.6 Приготовление контрольного раствора

В виалу вместимостью 10 см^3 помещают 5,0 см^3 градуировочного раствора № 1 (см. 8.5.2), 5,0 см^3 дистиллированной воды и перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С — не более одной недели.

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

8.6 Градуировка прибора и контроль стабильности градуировочной характеристики

8.6.1 Проверка качества дистиллированной воды

Регистрируют электрофореграмму дистиллированной воды, используемой для приготовления растворов, в условиях анализа, указанных в таблице 2. Качество дистиллированной воды признается удовлетворительным, если на полученной электрофореграмме не обнаруживаются пики определяемых компонентов.

Если на полученной электрофореграмме дистиллированной воды наблюдаются пики с временами миграции, соответствующими временам миграции определяемых компонентов, то дистиллированную воду заменяют на бидистиллированную.

Если на полученной электрофореграмме дистиллированной воды наблюдаются обратные пики с временами миграции, соответствующими временам миграции определяемых компонентов, то следует проверить чистоту посуды, используемой для анализа, или выявить загрязненные реактивы.

Проверка качества дистиллированной воды проводится периодически при возникновении подозрения на ее непригодность и при приготовлении свежего градуировочного раствора № 1 из стандартных образцов состава раствора соответствующих анионов.

8.6.2 Градуировка прибора

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

Непосредственно перед анализом готовят капилляр в соответствии с 8.3.2. Между анализами капилляр промывают согласно с 8.3.3.

Для проведения градуировки прибора регистрируют электрофореграммы градуировочных растворов, приготовленных по 8.5.2—8.5.5, в условиях, указанных в таблице 2. Рабочие параметры для конкретного прибора подбирают таким образом, чтобы при измерении градуировочных растворов достигалось разделение пиков анионов с коэффициентом разделения не менее 1. Длину волны детектирования, при условии возможности ее перестройки, выбирают в области 250—270 или 360—380 нм таким образом, чтобы высота пиков анионов в градуировочных растворах была максимальной. Подобранные параметры анализа фиксируют и используют для регистрации электрофореграмм градуировочных растворов и растворов, полученных при подготовке проб.

Таблица 2 — Условия проведения измерений

Наименование параметра	Значение параметра
Длина волны, нм	250—270 (254*) или 360—380
Температура, °С	20
Ввод пробы гидродинамический, мбар · с	От 150 до 300
Напряжение, кВ	От минус 25 до минус 10
* При использовании детектора, работающего на постоянной длине волны 254 нм.	

Определяемые компоненты в порядке выхода: хлорид-, сульфат-, нитрат-, фосфат-ионы.

Диапазон линейности градуировочной характеристики для хлорид-, сульфат-, фосфат-ионов составляет 0,5—50,0 мг/дм^3, для нитрат-ионов 0,4—50,0 мг/дм^3.

Пример электрофореграммы градуировочного раствора приведен в приложении А.

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

Затем обрабатывают электрофореграмму согласно процедуре градуировки в соответствии с Руководством пользователя программного обеспечения, используемого для сбора и обработки данных.

Градуировочная характеристика признается приемлемой при выполнении следующих условий:

- значение коэффициента корреляции, рассчитанное программой, более 0,99;
- относительное отклонение рассчитанных при помощи установленной градуировочной характеристики значений массовой концентрации компонента от фактического значения в каждой точке (см. таблицу 1) не превышает ±7 % или относительное среднее квадратическое отклонение не превышает 5 % (значения вычисляются автоматически с помощью программного обеспечения).

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

При замене капилляра, после проведения ремонта, при смене партии хотя бы одного из компонентов электролита, изменении одного из параметров проведения измерений (см. таблицу 2), а также получении неудовлетворительных результатов контроля стабильности градуировочной характеристики (см. 8.6.3) градуировку прибора проводят заново.

Примечание — Необходимо через четыре—пять вводов пробирки на входе и выходе заново заполнять другими порциями фонового электролита.

8.6.3 Контроль стабильности градуировочной характеристики

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

Для контроля стабильности градуировочной характеристики используют контрольный раствор (см. 8.5.6), который анализируют не менее двух раз в условиях, приведенных в таблице 2.

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

При помощи программного обеспечения вычисляют массовую концентрацию анионов в контрольном растворе для каждого ввода, используя действующую на данный момент градуировочную характеристику, установленную по 8.6.2, и оценивают приемлемость полученных значений согласно условию:

$$|C_1 - C_2| \le 0{,}05 \cdot \overline{C}, \quad (1)$$

где C_1 и C_2 — значение массовой концентрации аниона для первого и второго вводов, мг/дм^3,

$\overline{C}$ — среднеарифметическое значение результатов измерений массовой концентрации аниона для двух последовательных вводов (C_1 и C_2), мг/дм^3.

Градуировочная характеристика признается стабильной, если выполняется неравенство:

$$|\overline{C} - C_к| \le 0{,}10 \cdot C_к, \quad (2)$$

где $\overline{C}$ — среднеарифметическое значение результатов измерений массовой концентрации аниона для двух последовательных вводов (C_1, C_2), мг/дм^3;

$C_к$ — массовая концентрация соответствующего аниона в контрольном растворе, мг/дм^3.

При невыполнении условий по формулам (1) и/или (2) промывают капилляр по 8.3.3, заново анализируют контрольный раствор еще два раза. При повторных отклонениях, превышающих указанные нормативы, заново градуируют прибор.

9 Проведение испытаний

9.1 Приготовление анализируемого раствора

9.1.1 Приготовление анализируемого раствора для определения массовой доли хлорид- и нитрат-ионов

Для каждой пробы проводят два параллельных испытания в условиях повторяемости.

Анализируемую пробу массой (500 ± 1) мг помещают в плоскодонную коническую колбу, добавляют 25 см^3 дистиллированной воды. Перемешивают, закрывают пробкой и встряхивают на аппарате для встряхивания в течение 20 мин.

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

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

В зависимости от объекта анализа подготовленную пробу разбавляют дистиллированной водой согласно рекомендациям, приведенным в таблице 3.

Таблица 3 — Рекомендуемые коэффициенты разбавления

Объект анализа	Определяемые компоненты	Коэффициент разбавления (Q_1)
Корма, комбикорма, сырье животного происхождения	Хлорид-ионы	10
	Нитрат-ионы	1
	Сульфат-ионы	10
	Фосфат-ионы	10
Сырье растительного происхождения	Хлорид-ионы	1
	Нитрат-ионы	1
	Сульфат-ионы	10
	Фосфат-ионы	10
Сырье минерального происхождения	Микрокомпоненты	1
	Макрокомпоненты	100

9.1.2 Приготовление анализируемого раствора для определения массовой доли сульфат- и фосфат-ионов

Анализируемую пробу массой (100,0 ± 0,5) мг помещают в виалу для кислотной обработки проб, добавляют 10 см^3 соляной кислоты (см. 8.4.8). Виалу герметично закрывают завинчивающейся крышкой и перемешивают содержимое.

Устанавливают виалу в сушильный шкаф и выдерживают в течение 14—16 ч при температуре 110 °С.

Виалу вынимают из шкафа и охлаждают до комнатной температуры. Содержимое виалы фильтруют через фильтр «синяя лента», отбросив первую порцию и собирая основной фильтрат в посуду с крышкой во избежание испарения. В стеклянный бюкс отбирают 0,50 см^3 фильтрата, раствор выпаривают досуха в струе теплого воздуха.

Срок хранения сухого остатка в закрытом бюксе при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 3 сут.

Сухой остаток растворяют в 0,5 см^3 дистиллированной воды и используют для анализа в течение рабочего дня.

В зависимости от объекта анализа полученный раствор разбавляют дистиллированной водой согласно рекомендациям, приведенным в таблице 3.

Допускается альтернативный вариант приготовления анализируемого раствора согласно нормативной документации на соответствующий вид продукции: фосфаты кормовые — по ГОСТ 24596.4—81 (подраздел 2.3), растительные корма, комбикорма и другое комбикормовое сырье — по ГОСТ Р 51420 (подразделы 8.1—8.3), ГОСТ Р 51421 (подразделы 8.2—8.4).

9.2 Регистрация и обработка электрофореграмм

Для каждого из двух параллельно анализируемых растворов регистрируют по одной электрофореграмме в условиях, указанных в таблице 2.

Пример электрофореграммы подготовленной пробы приведен в приложении А.

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

Если анализируемые анионы обнаружены, то определяют их массовую концентрацию с использованием градуировочной характеристики, установленной по 8.6.2.

Если измеренные значения массовой концентрации одного или нескольких анионов превышают верхнюю границу диапазона градуировочной характеристики, то анализируемый раствор разбавляют дистиллированной водой так, чтобы значение массовой концентрации анионов в полученном растворе находилось в середине диапазона измеряемых значений. При невозможности обеспечить это условие для всех анионов при одном разбавлении следует сделать несколько разбавлений, оптимальных для отдельных анионов и/или их сочетаний.

Коэффициент дополнительного разбавления Q_2 вычисляют по формуле

$$Q_2 = \frac{V_к}{V_а}, \quad (3)$$

где $V_к$ — объем разбавленного раствора, см^3;

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

Примечание — На стадии освоения методики для идентификации компонентов рекомендуется использовать метод добавок. Определяемый анион вводят в подготовленную пробу таким образом, чтобы массовая концентрация добавки составила от 50 % до 150 % от предварительно измеренной. Увеличение высоты соответствующего пика подтверждает правильность идентификации. Аналогичную процедуру рекомендуется проводить при анализе проб, идентификация пиков которых вызывает сомнения.

10 Обработка результатов испытаний

10.1 Массовую долю хлорид- и нитрат-ионов в пробе X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{V \cdot C_{изм} \cdot 100 \cdot Q_1 \cdot Q_2}{m \cdot 1000}, \quad (4)$$

где V — общий объем дистиллированной воды, взятый для получения водной вытяжки по 9.1.1, см^3 (25 см^3);

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

100 — коэффициент пересчета в проценты;

Q_1 — коэффициент разбавления (см. 9.1.1);

Q_2 — коэффициент дополнительного разбавления (см. 9.2);

m — масса анализируемой пробы, мг (500 мг);

1000 — коэффициент согласования размерности единиц измерения объема.

10.2 Массовую долю сульфат- и фосфат-ионов в пробе X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{V_{HCl} \cdot V_{кон} \cdot C_{изм} \cdot Q_1 \cdot Q_2 \cdot 100}{m \cdot V_{ал} \cdot 1000}, \quad (5)$$

где V_{HCl} — объем соляной кислоты, использованный для обработки пробы, см^3 (10 см^3);

$V_{кон}$ — объем конечного (анализируемого) раствора, см^3 (0,5 см^3);

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

Q_1 — коэффициент разбавления (см. 9.1.2);

Q_2 — коэффициент дополнительного разбавления (см. 9.2);

100 — коэффициент пересчета в проценты;

m — масса анализируемой пробы, мг (100 мг);

$V_{ал}$ — объем аликвотной порции фильтрата, взятого для выпаривания, см^3 (0,5 см^3);

1000 — коэффициент согласования размерности единиц измерения объема.

10.3 Если результат испытаний необходимо представить в пересчете с анионов на другие химические формы, то значения массовой доли, полученные по формулам (4), (5), умножают на соответствующие коэффициенты. Значения коэффициентов для наиболее часто встречающихся форм, представлены в таблице 4.

Таблица 4 — Коэффициенты пересчета

Форма определения	Форма для выражения результатов	Коэффициент
Сульфат-ионы	Сера (S)	0,334
Фосфат-ионы	Оксид фосфора V (P_2O_5)	0,747
Фосфат-ионы	Фосфор (P)	0,326

10.4 За результат определения массовой доли аниона в пробе принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных испытаний, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (см. 11).

Результат определения массовой доли анионов в пробе может быть представлен в виде $\overline{X} \pm U$, %, при этом U — показатель точности измерений (расширенная неопределенность с коэффициентом охвата 2), рассчитывают по формуле

$$U = 0{,}01 \cdot \overline{X} U_{отн}, \quad (6)$$

где 0,01 — коэффициент пересчета;

$\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов испытаний массовой доли анионов для двух параллельных испытаний (X_1, X_2), %;

$U_{отн}$ — относительная расширенная неопределенность с коэффициентом охвата 2, значение $U_{отн}$ для каждого компонента приведено в таблице 5, %.

Результат испытаний массовой доли аниона в пробе должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение расширенной неопределенности «U», рассчитанное по формуле (6), выраженное в процентах и содержащее не более двух значащих цифр.

Таблица 5 — Значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности при доверительной вероятности P = 0,95 %

В процентах

Наименование аниона	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Относительная расширенная неопределенность с коэффициентом охвата 2* $U_{отн}$
Хлорид-ион	От 0,005 до 60,00 включ.	14	22	16
Сульфат-ион	Св. 0,005 » 70,00 »			
Нитрат-ион	» 0,002 » 1,00 »			
Фосфат-ион	» 0,005 » 80,00 »			

* Численно равна (без учета знака) значению доверительных границ относительной погрешности измерений δ, %, для доверительной вероятности P = 0,95.

11 Контроль точности результатов испытаний

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

$$|X_1 - X_2| \le 0{,}01 \cdot \overline{X} \cdot r, \quad (7)$$

где 0,01 — коэффициент пересчета;

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

r — значение предела повторяемости (см. таблицу 5), %.

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

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

$$|X_{1лаб} - X_{2лаб}| \le 0{,}01 \cdot \overline{X}_{лаб} \cdot R, \quad (8)$$

где 0,01 — коэффициент пересчета;

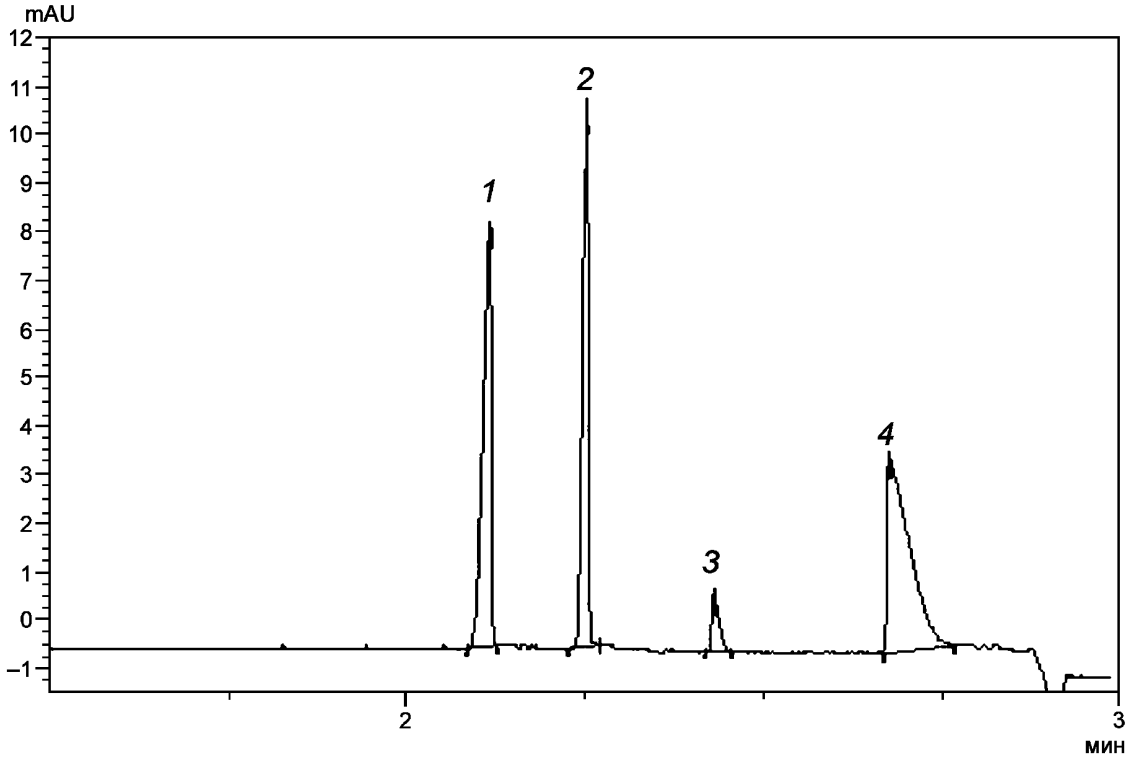
$\overline{X}_{лаб}$ — среднеарифметическое значение результатов измерений в двух лабораториях, %;

R — значение предела воспроизводимости (см. таблицу 5), %.

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

Приложение А
(справочное)

Примеры электрофореграмм



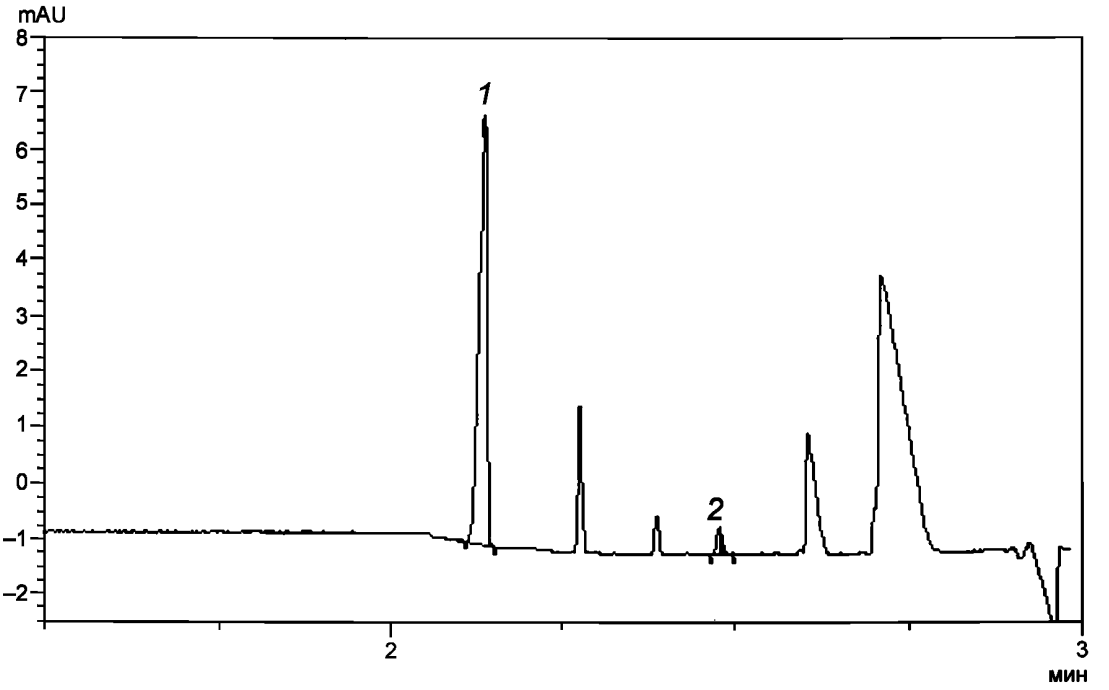
1 — хлорид-ионы; *2* — сульфат-ионы; *3* — нитрат-ионы; *4* — фосфат-ионы

Рисунок А.1 — Электрофореграмма градуировочного раствора

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

Т а б л и ц а А.1 — Условия проведения анализа

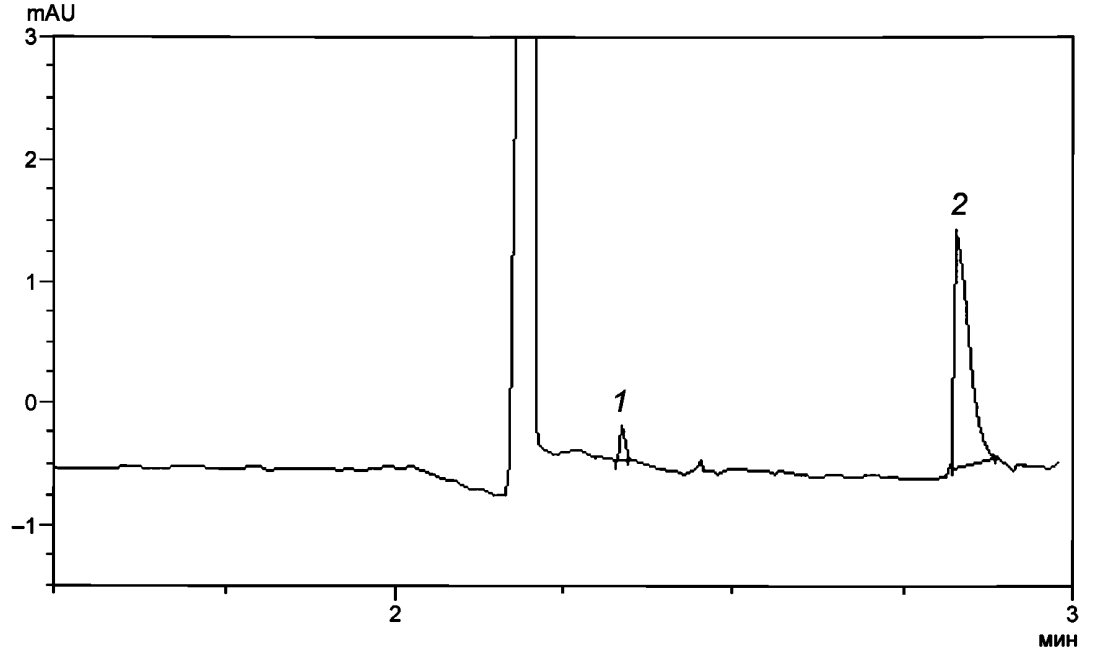
Наименование параметра	Значение параметра
Общая длина капилляра, см	60
Внутренний диаметр капилляра, мкм	75
Температура, °С	20
Длина волны, нм	374
Ввод пробы гидродинамический, мбар · с	150
Напряжение, кВ	минус 25



1 — хлорид-ионы — 0,42 %; *2* — нитрат-ионы — 0,03 %

Рисунок А.2 — Электрофореграмма водной вытяжки мясокостной муки

Электрофореграмма водной вытяжки мясокостной муки получена в условиях, приведенных в таблице А.1.



1 — сульфат-ионы — 0,09 %; *2* — фосфат-ионы — 3,4 %

Рисунок А.3 — Электрофореграмма мясокостной муки после кислотной обработки

Электрофореграмма мясокостной муки после кислотной обработки получена в условиях, приведенных в таблице А.1.

УДК 636.085.3:006.354 ОКС 65.120 С19

Ключевые слова: корм, комбикорм, сырье, анион, хлорид, нитрат, сульфат, фосфат, ион, кислотная обработка, капиллярный электрофорез, электрофореграмма

Редактор *Н.Н. Мигунова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.И. Варенцова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 20.04.2015. Подписано в печать 26.05.2015. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,75. Тираж 39 экз. Зак. 2010.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru