

---

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

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
31486—  
2012

---

## ПРЕМИКСЫ

### Метод определения содержания витамина К<sub>3</sub>

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2012

## Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

### Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 41 от 23—24 мая 2012 г.)

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 |
|---|------------------------------------|---|
| Азербайджан   | AZ                                 | Азгосстандарт   |
| Армения   | AM                                 | Минторгэкономразвития   |
| Кыргызстан  | KG                                 | Кыргызстандарт  |
| Российская Федерация                                | RU                                 | Росстандарт   |

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 сентября 2012 г. № 446-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31486—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 53027—2008

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта публикуется в указателе «Национальные стандарты».*

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе «Национальные стандарты», а текст изменений — в информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Национальные стандарты»*

© Стандартиформ, 2012

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

## ПРЕМИКСЫ

Метод определения содержания витамина К<sub>3</sub>

Premixes.  
Method for determination of vitamin K<sub>3</sub>

Дата введения — 2013—07—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на премиксы и устанавливает фотометрический метод определения витамина К<sub>3</sub>.

## 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 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности
- ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования
- ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты
- ГОСТ 83—79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия
- ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
- ГОСТ 1942—86 1,2-Дихлорэтан технический. Технические условия
- ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия
- ГОСТ 3760—79 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия
- ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
- ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
- ГОСТ 13496.0—80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб
- ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования
- ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
- ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой
- ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

**Примечание** — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стан-

дарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссыльный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Диапазоны измерений содержания витамина К<sub>3</sub> и метрологические характеристики метода

Диапазоны измерений содержания витамина К<sub>3</sub> и значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности при вероятности  $P = 0,95$  приведены в таблице 1.

Таблица 1

| Диапазон измерений, г/г | Показатель повторяемости (относительное средне-квадратичное отклонение повторяемости) $\sigma_r$ , % | Показатель воспроизводимости (относительное средне-квадратичное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R$ , % | Показатель точности (границы относительной погрешности) $\pm \delta$ , % |
|-------------------------|--|--|--|
| От 0 до 100 включ.      | 4,8  | 7,1  | 14   |
| Св. 100 до 500 »        | 2,9  | 5,1  | 10   |
| » 500 » 1000 »          | 2,7  | 4,9  | 9,6  |

### 4 Требования техники безопасности

4.1 При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, ГОСТ 12.1.018 и электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

4.2 Помещение, в котором проводят измерения, должно быть снабжено приточно-вытяжной вентиляцией. Работу с реактивами необходимо проводить в вытяжном шкафу.

4.3 При работе с концентрированными кислотами и щелочами необходимо использовать резиновые перчатки.

### 5 Отбор и подготовка проб к выполнению анализа

5.1 Отбор проб — по ГОСТ 13496.0.

Допускается отбирать пробы премиксов, упакованных в бумажные мешки, мешочным щупом с последующим заклеиванием отверстия.

5.2 Подготовка пробы к анализу — по [1].

### 6 Определение содержания витамина К<sub>3</sub>

Сущность метода заключается в извлечении витамина К<sub>3</sub> из исследуемой пробы этиловым спиртом, экстракции 1,2-Дихлорэтаном и фотометрировании продукта цветной реакции его с (2,4-Динитрофенил)-гидразином при длине волны 635 нм.

#### 6.1 Средства измерений, оборудование, материалы и реактивы

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более  $\pm 0,0001$  г.

Фотозлектроколориметр с рабочим спектральным диапазоном от 315 до 980 нм с основной погрешностью измерений коэффициента пропускания не более 1 % или спектрофотометр типа СФ.

Аппарат для встряхивания жидкости типа АБУ-1.

Центрифуга лабораторная ЦЭ-2 с числом оборотов 3000 об/мин.

Баня водяная с регулятором нагрева.

Колбы конические К<sub>3</sub>-2-(250)-(34, 40) ТХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 1(2)-2-25(100) по ГОСТ 1770.

Пипетки градуированные 2(3)-1(2)-2-0.5(1,0; 2,0; 5,0; 10; 25) по ГОСТ 29227.

Пипетки с одной меткой 1(2)-2-2(10, 20, 25, 50) по ГОСТ 29169.

Цилиндры 1(3)-50(100) по ГОСТ 1770.

Воронки лабораторные В-36(56, 75)-50(80, 110) ХС по ГОСТ 25336.

Воронки делительные ВД-1-250 ХС по ГОСТ 25336.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026 или фильтры «красная лента».

Аммиак водный по ГОСТ 3760.

(2,4-Динитрофенил)-гидразин.

Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья с объемной долей этилового спирта 96,0 %—96,3 %.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Витамин К<sub>3</sub> менадион (2-метил-1,4-нафтохинон) фирмы Supelko

1, 2-Дихлорэтан по ГОСТ 1942.

Натрий углекислый по ГОСТ 83, раствор с массовой долей углекислого натрия 10 %.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

#### П р и м е ч а н и я

1 Допускается применение средств измерений, вспомогательного оборудования с аналогичными метрологическими и техническими характеристиками, а также материалов и реактивов, по качеству не ниже указанных.

2 Все реактивы должны быть квалификации х.ч. или ч.д.а.

## 6.2 Подготовка к выполнению анализа

### 6.2.1 Приготовление раствора (2,4-Динитрофенил)-гидразина

80 мг (2,4-Динитрофенил)-гидразина, взвешенного с погрешностью не более  $\pm 0,01$  мг, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, растворяют при нагревании до 70 °С на водяной бане в 80 см<sup>3</sup> этилового спирта по 6.1, охлаждают до комнатной температуры, добавляют 2 см<sup>3</sup> соляной кислоты (35 %—38 %) и доводят содержимое в колбе до метки этиловым спиртом, тщательно перемешивают.

### 6.2.2 Приготовление раствора этилового спирта с массовой долей 40 %

В стеклянную емкость вносят 40 см<sup>3</sup> этилового спирта, приливают 56 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, перемешивают.

### 6.2.3 Приготовление стандартного раствора витамина К<sub>3</sub>

Навеску витамина К<sub>3</sub> массой 10 мг, взвешенную с погрешностью не более  $\pm 0,1$  мг, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, приливают до метки этиловый спирт с массовой долей 40 % и тщательно перемешивают.

Затем 10 см<sup>3</sup> полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, доводят до метки этиловым спиртом с массовой долей 40 % и перемешивают.

25 см<sup>3</sup> полученного раствора отбирают в делительную воронку вместимостью 250 см<sup>3</sup>, добавляют 50 см<sup>3</sup> 1,2-Дихлорэтана, 20 см<sup>3</sup> раствора углекислого натрия с массовой долей 10 % и перемешивают в течение 0,5—1,0 мин. Раствор отстаивают до разделения фаз. Затем фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтан (нижнюю), переносят в другую делительную воронку, добавляют 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и перемешивают в течение 0,5 мин. После перемешивания раствор снова отстаивают до фазоразделения и фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтан, фильтруют через бумажный беззольный фильтр. Получают стандартный раствор витамина К<sub>3</sub>, в 1 см<sup>3</sup> которого содержится 5 мкг витамина К<sub>3</sub>. Раствор витамина К<sub>3</sub> хранят в холодильнике при температуре от 4 °С до 6 °С.

### 6.2.4 Построение градуированного графика

В 10 мерных колб вместимостью по 25 см<sup>3</sup> приливают стандартный раствор витамина К<sub>3</sub> (см. 6.2.3) в объемах, указанных в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 — Растворы сравнения

| Наименование показателя                                | Номера колб |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|  | 1           | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  |
| Объем стандартного раствора, см <sup>3</sup>           | 0,5         | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 | 6,0 | 7,0 | 8,0 | 9,0 |
| Масса витамина К <sub>3</sub> , мкг/25 см <sup>3</sup> | 2,5         | 5   | 10  | 15  | 20  | 25  | 30  | 35  | 40  | 45  |

В каждую из 10 колб приливают по 7,5 см<sup>3</sup> раствора (2,4-Динитрофенил)-гидразина и помещают их в водяную баню одновременно с испытуемыми и контрольным растворами (см. 6.2.5) на 2 ч при температуре (70  $\pm$  2) °С, периодически перемешивая содержимое колб. После этого растворы в колбах охлаждают

до комнатной температуры, приливают в каждую колбу по 7,5 см<sup>3</sup> смеси этилового спирта по 6.1 и водного аммиака с массовой долей 25 % в объемном соотношении 1:1, перемешивают, доводят объемы в колбах до метки этиловым спиртом, тщательно перемешивают и измеряют оптические плотности растворов сравнения в порядке возрастания их концентраций на спектрофотометре при длине волны 635 нм или фотоэлектроколориметре с красным светофильтром при длине волны (625 ± 25) нм в кювете толщиной поглощающего свет слоя 10 мм относительно контрольного раствора.

По полученным данным строят градуировочный график, откладывая на оси ординат значения оптической плотности растворов сравнения, на оси абсцисс — содержание витамина К<sub>3</sub>, мкг/25 см<sup>3</sup> раствора.

#### 6.2.5 Приготовление контрольного раствора

5 см<sup>3</sup> 1,2-Дихлорэтана отбирают в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup>, приливают 7,5 см<sup>3</sup> раствора (2,4-Динитрофенил)-гидразина. Колбу помещают в водяную баню одновременно с испытуемыми пробами и растворами сравнения, далее проводят ту же самую обработку, что и с испытуемой пробой по 6.3.2 и 6.3.3.

#### 6.3 Проведение анализа

6.3.1 Навеску премикса массой от 5 до 10 г, взвешенную с погрешностью не более ± 0,01 г, помещают в колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup>, приливают 100 см<sup>3</sup> этилового спирта с массовой долей 40 %, встряхивают на аппарате в течение 15 мин и центрифугируют в течение 10 мин при 3000 об/мин. Центрифугат фильтруют для устранения случайно оставшихся взвешенных частиц. Отбирают от 5 до 25 см<sup>3</sup> фильтра в зависимости от предполагаемого содержания витамина К<sub>3</sub> в испытуемом образце премикса, в делительную воронку вместимостью 250 см<sup>3</sup> приливают 50 см<sup>3</sup> 1,2-Дихлорэтана и 20 см<sup>3</sup> раствора углекислого натрия с массовой долей 10 % и перемешивают в течение 0,5—1,0 мин.

Раствор отстаивают до разделения фаз. Затем фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтана, в полном объеме переносят в другую делительную воронку, приливают в нее 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и перемешивают в течение 0,5 мин.

После этого раствору снова дают отстояться до фазоразделения и фазу, содержащую 1,2-Дихлорэтана, фильтруют через бумажный беззольный фильтр.

6.3.2 5 см<sup>3</sup> 1,2-Дихлорэтанового экстракта испытуемых проб отбирают в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup>, приливают 7,5 см<sup>3</sup> раствора (2,4-Динитрофенил)-гидразина (см. 6.2.1), колбу помещают в водяную баню и выдерживают ее 2 ч при температуре (70 ± 2) °С, периодически перемешивая содержимое колбы.

6.3.3 По истечении указанного времени содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, приливают 7,5 см<sup>3</sup> смеси этилового спирта по 6.1 и водного аммиака с массовой долей 25 % в объемном соотношении 1:1, доводят объем в колбе этиловым спиртом до метки, тщательно перемешивают и измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 635 нм или фотоэлектроколориметре с красным светофильтром при длине волны (625 ± 25) нм в кювете толщиной поглощающего свет слоя 10 мм относительно контрольного раствора (см. 6.2.5). Раствор готовят в день проведения анализа.

## 7 Обработка результатов анализа

7.1 Содержание витамина К<sub>3</sub> в премиксе X, г/т, вычисляют по формуле

$$X = \frac{c v v_2 \cdot 10^6}{m v_1 v_3 \cdot 10^6}, \quad (1)$$

где с — масса витамина К<sub>3</sub>, найденная по градуировочному графику, мкг;

v — объем спиртового экстракта, см<sup>3</sup>;

v<sub>2</sub> — объем 1,2-Дихлорэтана, взятый для экстракции, см<sup>3</sup>;

10<sup>6</sup> — коэффициент перевода микрограммов в граммы;

m — масса навески премикса, г;

v<sub>1</sub> — объем фильтра спиртового экстракта, взятый для экстрагирования 1,2-Дихлорэтаном, см<sup>3</sup>;

v<sub>3</sub> — объем 1,2-Дихлорэтанового экстракта, взятый для окрашивания, см<sup>3</sup>;

10<sup>6</sup> — коэффициент перевода граммов в тонны.

7.2 Вычисления выполняют с точностью до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

## 8 Оформление результатов анализа

При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения, начиная со взятия навески испытуемой пробы. Если расхождение между результатами параллельных определений не превышает допустимое  $|X_1 - X_2| \leq 0,01r\bar{X}$  ( $X_1, X_2, \bar{X}$  — результаты первого и второго параллельных определений и их среднеарифметическое значение соответственно), то среднеарифметическое значение принимают за результат анализа. В противном случае получают еще два результата определений и вычисляют окончательный результат анализа пробы по [2] (подраздел 5.2).

Значения предела повторяемости  $r$  и предела воспроизводимости  $R$  приведены в таблице 3.

Таблица 3

| Диапазон измерений, г/т | Предел повторяемости (относительное значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений) $r$ , % | Предел воспроизводимости (относительное значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях) $R$ , % |
|-------------------------|---|---|
| От 0 до 100 включ.      | 13  | 20  |
| Св. 100 » 500 »         | 8   | 14  |
| » 500 » 1000 »          | 8   | 14  |

По полученному результату анализа и значению относительной погрешности  $\delta$  (см. таблицу 1) рассчитывают абсолютную погрешность по формуле

$$\Delta = 0,01\delta\bar{X}, \quad (4)$$

где  $\bar{X}$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Результат анализа представляют в виде  $(\bar{X} \pm \Delta)$ , %. Допускается представление результата в виде  $(\bar{X} \pm \Delta_n)$ , %, где  $\Delta_n$  — значение характеристики погрешности результатов анализа, установленное при реализации методики в конкретной лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов анализа, при условии  $\Delta_n \leq \Delta$ .

## Библиография

- [1] ИСО 6498:1998 Корма для животных. Приготовление проб для испытания  
 [2] ИСО 5725-6:1994 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

Ключевые слова: премиксы, витамин K<sub>3</sub>, метод, оптическая плотность, спектрофотометр, фотоэлектроколориметр

---

Редактор *Н.В. Таланова*  
Технический редактор *В.Н. Прусакова*  
Корректор *В.Е. Нестерова*  
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 29.10.2012. Подписано в печать 15.11.2012. Формат 60 × 84  $\frac{1}{8}$ . Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70. Тираж 115 экз. Зак. 1034.

---

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)  
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.  
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 8.