

PASZE	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-83
	Pasze Oznaczenie Bayonoxu (olaquindoxu) w preparatach, premiksach i mieszankach paszowych	9160-24
		Grupa katalogowa 1549

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest metoda oznaczania zawartości Bayonoxu (olaquindoxu) w preparatach, premiksach i mieszankach paszowych.

1.2. Zakres obowiązywania normy. Norma obowiązuje w laboratoriach zajmujących się kontrolą i oceną jakości pasz.

1.3. Pobieranie próbek — wg PN-75/R-64769.

2. METODY OZNACZANIA

2.1. Zasada oznaczania polega na wyekstrahowaniu Bayonoxu (za pomocą: wody w przypadku preparatów, mieszaniny metanolu i wody w przypadku mieszanek paszowych), wyodrębnieniu Bayonoxu poprzez rozdział za pomocą chromatografii cienkowsarstwowej oraz spektrofotometrycznym pomiarze w zakresie światła UV.

2.2. Aparatura i przyrządy

a) Waga analityczna o dokładności pomiaru 0,0001 g.

b) Mieszadło magnetyczne.

c) Spektrofotometr z zakresem światła UV.

d) Mikrowirówka.

e) Suszarka.

f) Lampa kwarcowa o długości fali 254 nm.

g) Komora do chromatografii cienkowsarstwowej 20 × 12 × 20 cm.

h) Płytki 20 × 20 cm, powleczone żelazem krzemionkowym o grubości warstwy 0,25 mm (DC-Fertigplatten Kieselgel 60F 254).

i) Obrotowy odparowywacz próżniowy.

j) Kolby pomiarowe pojemności 10; 100; 250 cm³.

k) Kolby stożkowe pojemności 300; 500; 1000 cm³.

l) Pipety pomiarowe pojemności 1; 5; 10; 20 cm³.

ł) Cylindry pomiarowe pojemności 50; 100; 500 cm³.

m) Lejki szklane.

n) Kolby okrągłodenne pojemności 250 cm³.

o) Strzykawki pojemności 100 μl.

p) Sączki bibułowe średnie.

2.3. Odczynniki

a) Metanol cz.d.a.

b) Aceton cz.d.a.

c) Etanol 99,8% cz.d.a.

d) Octan etylu cz.d.a.

e) Eter naftowy cz.d.a.

f) Dwuetyloamina cz.d.a.

g) Olaquindox — standard.

2.4. Oznaczenie Bayonoxu w preparatach

2.4.1. Przygotowanie roztworu wzorca. Około 55 mg substancji standardowej dokładnie zważyć, przenieść do kolby pomiarowej pojemności 250 cm³, rozpuścić w wodzie destylowanej i uzupełnić wodą do kreski. Pobrać 5 cm³ tego roztworu do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ i uzupełnić wodą destylowaną do kreski.

2.4.2. Przygotowanie roztworu próbki. Dokładnie odważyć około 500 mg próbki do kolby pomiarowej pojemności 250 cm³, dopełnić wodą destylowaną do kreski i energicznie mieszać za pomocą mieszadła magnetycznego przez 30 min, a następnie przesączyć przez sączek karbowany. Pobrać 5 cm³ tego roztworu do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ i uzupełnić wodą destylowaną do kreski.

2.4.3. Pomiar. Ekstynkcje roztworów próbki i wzorca zmierzyć w spektrofotetrze, w kuwetach kwarcowych o drodze optycznej 1 cm, przy długości fali 372 nm, wobec wody destylowanej jako próbki odniesienia.

2.4.4. Obliczanie wyników oznaczania. Zawartość Bayonoxu w badanej próbce przeliczoną na % wag. obliczyć ze wzoru

$$x = \frac{E_p \cdot W_v \cdot 100}{E_v \cdot W_p} \quad (1)$$

w którym:

E_p — ekstynkcja roztworu próbki,

E_v — ekstynkcja roztworu wzorca,

W_p — odważka próbki, mg,

W_v — odważka wzorca, mg.

Zgłoszona przez Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego
Ustanowiona przez Dyrektora Centralnego Laboratorium Przemysłu Paszowego dnia 15 listopada 1983 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1984 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 17/1983 poz. 35)

2.4.5. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej dwóch równoległych powtórzeń, różniących się między sobą nie więcej niż 2% błędu względnego.

2.5. Oznaczanie Bayonoxu w premiksach

2.5.1. Przygotowanie roztworu wzorca. 100 mg substancji standardowej rozpuścić w 100 cm³ wody destylowanej. Pobrać 10 cm³ tego roztworu do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ i uzupełnić wodą destylowaną do kreski.

2.5.2. Przygotowanie roztworu próbki. 2 g próbki umieścić w kolbie stożkowej pojemności 500 cm³, dodać 100 cm³ mieszaniny metanol-woda (7:3) i energicznie mieszać za pomocą mieszadła magnetycznego przez 30 min, po czym przesączyć przez sączek karbowany.

2.5.3. Chromatografia. Na płytkę chromatograficzną w odległości około 2,5 cm od brzegu płytki nanieść za pomocą strzykawki po 100 µl roztworu próbki i wzorca w postaci paska o długości około 5 cm. Powierzchnie żelu w czasie nanoszenia dokładnie suszyć strumieniem zimnego powietrza. Rozdział prowadzić w zamkniętej komorze chromatograficznej w układzie: octan etylu-aceton-etanol-dwuetyloamina (50:40:10:5), po uprzednim wysyceniu komory (1 h przed chromatografią ścianki komory wyłożyć bibułą zwilżoną fazą ruchomą). Chromatografię prowadzić do chwili, gdy odległość od linii startu do czoła rozpuszczalnika wynosić będzie około 15 cm, po czym wyjąć płytkę z komory i odparować przez około 1 h fazę ruchomą za pomocą zimnego powietrza, aż zapach dwuetyloaminy będzie niewyczuwalny. Następnie zaznaczyć plamy Bayonoxu w świetle lampy kwarcowej o długości fali 254 nm, zeszkrobać powierzchnie żelu zawierające Bayonox do próbek wirówkowych (mikro), dodać po 1 cm³ wody destylowanej, wstrząsać przez 15 min i wirować około 10 min przy 20 tys. obr./min.

2.5.4. Pomiar. Ekstynkcję klarownych supernatantów próby i wzorca zmierzyć w spektrofotometrze, w kuwetach kwarcowych o drodze optycznej 1 cm, przy długości fali 372 nm wobec wody jako próby odniesienia.

2.5.5. Obliczanie wyników oznaczania. Zawartość Bayonoxu (X w ppm) w badanej próbce obliczyć ze wzoru

$$X = \frac{E_p \cdot 5000}{E_v} \quad (2)$$

w którym:

E_p — ekstynkcja próbki badanej,

E_v — ekstynkcja próbki wzorcowej.

2.5.6. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej dwóch równoległych oznaczeń różniących się między sobą nie więcej niż 5% błędu względnego.

2.6. Oznaczanie Bayonoxu w mieszkach paszowych

2.6.1. Przygotowanie roztworu wzorca. 100 mg substancji standardowej dokładnie zważyć i rozpuścić w 100 cm³ wody destylowanej. Pobrać 10 cm³ tego roztworu do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ i uzupełnić wodą destylowaną do kreski.

2.6.2. Przygotowanie roztworu próbki. 50 g próbki umieścić w kolbie stożkowej pojemności 1000 cm³, dodać 500 cm³ rozpuszczalnika aceton-woda (9:1) i energicznie mieszać za pomocą mieszadła magnetycznego przez 2 h, po czym przesączyć przez sączek karbowany. Odparować 100 cm³ filtratu w kolbie okrągłodennej pojemności 250 cm³, pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze 40°C do objętości około 6 cm³, aż zapach acetonu w pozostałości nie będzie wyczuwalny.

2.6.3. Oczyszczanie ekstraktu. Do pozostałości w kolbie dodać 50 cm³ eteru naftowego, ostrożnie zamieszać i odstawić do momentu rozdzielenia się faz, po czym za pomocą pipety ostrożnie odciągnąć warstwę eterową i usunąć ją. Czynność tę powtórzyć jeszcze dwukrotnie. W obrotowym odparowywaczu próżniowym odparować eter naftowy z ekstraktu w temperaturze 40°C, a ekstrakt przenieść za pomocą wody destylowanej do kolby pomiarowej pojemności 10 cm³ i uzupełnić wodą do kreski. Roztwór pozostawić na 16 h w lodówce, a następnie odwirować przy 20 tys. obr./min przez około 10 min.

2.6.4. Chromatografia. Na płytkę chromatograficzną w odległości około 2,5 cm od brzegu nanieść za pomocą strzykawki 100 µl roztworu wzorcowego i poniższe objętości ekstraktu w postaci paska o długości około 5 cm (tablica).

Deklarowana ilość Bayonoxu ppm	Objętość nakładanej próbki µl
100	100
50	200

Powierzchnie żelu w czasie nanoszenia dokładnie suszyć strumieniem zimnego powietrza. Rozdział prowadzić w zamkniętej komorze chromatograficznej, po uprzednim jej wysyceniu (1 h przed chromatografią wyłożyć ścianki komory bibułą zwilżoną fazą ruchomą) w układzie octan etylu-aceton-etanol-dwuetyloamina (50:40:10:5), do momentu, gdy odległość od linii startu do czoła rozpuszczalnika wynosić będzie około 15 cm. Następnie wyjąć płytkę z komory i odparować fazę ruchomą strumieniem zimnego powietrza, aż niewyczuwalny będzie zapach dwuetyloaminy. Plamy Bayonoxu zaznaczyć w świetle lampy kwarcowej o długości fali 254 nm, po czym zeszkrobać powierzchnie żelu zawierające Bayonox do próbek wirówkowych (mikro), dodać do każdej po 1 cm³ wody destylowanej, wstrząsać przez 15 min i wirować około 10 min przy 20 tys. obr./min.

2.6.5. Pomiar. Ekstynkcje klarownych supernatantów próbki i wzorca zmierzyć w spektrofotometrze w kuwetach kwarcowych o drodze optycznej 1 cm, przy długości fali 372 nm wobec destylowanej wody jako próbki odniesienia. Jako ślepą próbkę wyznaczyć wartości ekstynkcji tych eluatów przy długości fali 415 nm.

2.6.6. Obliczanie wyników oznaczania. Zawartość Bayonoxu (X w ppm) obliczyć wg wzorów:

a) przy deklarowanej zawartości — 100 ppm

$$X = \frac{W_v \cdot E_p}{E_v} \quad (3)$$

b) przy deklarowanej zawartości — 50 ppm

$$X = \frac{W_v \cdot E_p}{E_v \cdot 2} \quad (4)$$

w których:

E_p — ekstynkcja eluatu próbki badanej (minus ślepa próbka),

E_v — ekstynkcja eluatu próbki wzorcowej (minus ślepa próbka),

W_v — odważka wzorca, mg.

2.6.7. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej dwóch równoległych oznaczeń różniących się między sobą nie więcej niż 7% błędu względnego.

Bayonox (olaquinox) jako składnik aktywny jest bardzo wrażliwy na światło i wszystkie czynności należy wykonywać w żółtym, przyćmionym świetle. Jeśli to możliwe należy stosować brązowe szkło. Temperatura w pokoju chromatograficznym nie powinna przekraczać 25°C.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego w Lublinie z siedzibą w Snopkowie.

2. Normy związane

PN-75/R-64769 Pasze. Pobieranie próbek

3. Autorzy projektu normy — dr Krystyna Tyczkowska, mgr Alicja Burczyńska-Niedziałek.