

PASZE	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-88
	Pasze	9160-38
	Oznaczania DOT w premiksach i mieszankach paszowych	Grupa katalogowa 1549

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy są metody oznaczania kokcydiostatyku DOT (nazwa chemiczna 3,5-dwunitro-orto-toluenoamid, nazwa handlowa — Zoalen, Abilen), w premiksach i mieszankach paszowych.

1.2. Zakres stosowania metod. Metodę opisaną w 2.1 stosuje się do oznaczania DOT w premiksach. Oznaczanie zawartości DOT w mieszankach wykonuje się metodą opisaną w 2.2. Metodę tę stosuje się dla próbek mieszanek zawierających nie mniej niż 40 mg DOT w 1 kg.

2. METODY BADAŃ

2.1. Oznaczanie DOT w premiksach

2.1.1. Zasada oznaczania polega na ekstrakcji DOT dwumetyloformamidem, dodaniu do ekstraktu etanolowego roztworu wodorotlenku potasowego i pomiarze absorbancji barwnego roztworu przy długości fali 640 nm.

2.1.2. Odczynniki, roztwory i materiały. Do analizy, jeżeli nie zaznaczono inaczej, należy stosować wyłącznie odczynniki cz.d.a. oraz wodę destylowaną lub wodę o równoważnej czystości.

a) Dwumetyloformamid.

b) Alkohol etylowy 96%(V/V).

c) Alkohol etylowy 96%, roztwór 10%(V/V) w dwumetyloformamidzie.

d) Roztwór wodorotlenku potasowego w alkoholu etylowym o $c(\text{KOH}) = 1 \text{ mol/l}$. Roztwór sączyć bezpośrednio przed użyciem.

e) Roztwór wzorcowy DOT. Zważyć z dokładnością 0,0001 g wzorcą DOT w ilości 0,1 g i przenieść za pomocą dwumetyloformamidu do kolby pomiarowej pojemności 100 ml. Po całkowitym rozpuszczeniu DOT uzupełnić kolbę do kreski dwumetyloformamidem i wymieszać (1 ml tego roztworu zawiera 1 mg DOT).

Roztwory DOT oraz ekstrakty premiksów są wrażliwe na światło i muszą być chronione przez stosowanie szkła

oranżowego lub stosowanie folii aluminiowej. Wykonanie oznaczania odbywać się powinno w zaciemnionym pokoju.

f) Sączki twarde.

2.1.3. Aparatura i przyrządy

a) Spektrofotometr z kuwetami o grubości 1 cm, z przykrywkami.

b) Wstrząsarka laboratoryjna.

c) Stoper.

2.1.4. Wykonanie oznaczania

2.1.4.1. Przygotowanie ekstraktu. Odważyć z dokładnością 0,001 g około 5 g premiksu, przenieść do kolby stożkowej ze szlifem pojemności 300 ml i wlać 100,0 ml dwumetyloformamidu. Zawartość kolby wstrząsać na wstrząsarce laboratoryjnej przez 15 min. Po opadnięciu osadu część ekstraktu przesączyć przez twardy sączek. Pobrać 5 ml filtratu do kolby pomiarowej pojemności 50 ml i uzupełnić do kreski dwumetyloformamidem. Zawartość wymieszać.

2.1.4.2. Przeprowadzenie pomiaru. Do próbki ze szlifem odmierzyć 1,0 ml rozcieńczonego filtratu, dodać 4,0 ml 10% roztworu alkoholu etylowego w dwumetyloformamidzie (2.1.2c) i 0,5 ml etanolowego roztworu wodorotlenku potasowego (2.1.2d). Probówkę zamknąć korkiem i zawartość próbki natychmiast wymieszać przez wstrząsanie. Dokładnie po upływie 1 min (mierzonej stoperem) od chwili dodania etanolowego roztworu wodorotlenku potasowego zmierzyć absorbancję roztworu spektrofotometrem w kuwetach o grubości 1 cm przy długości fali 640 nm wobec próby ślepej, w której 1 ml filtratu zastąpić 1 ml dwumetyloformamidu.

2.1.4.3. Sporządzanie krzywej wzorcowej. Do kolb pomiarowych pojemności 50 ml przenieść za pomocą pipety kolejno: 1,0; 2,0; 3,0 i 4,0 ml roztworu wzorcowego DOT. Uzupełnić kolby do kreski dwumetyloformamidem i zawartość wymieszać. Uzyskane roztwory zawierają odpowiednio 20; 40; 60 i 80 μg DOT w 1 ml roztworu.

Z każdego rozcieńczenia pobrać po 1 ml do probówek ze szlifem i przeprowadzić pomiar jak opisano w 2.1.4.2. Wykreślić zależność absorbancji od stężenia DOT.

Zgłoszona przez Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego
Ustanowiona przez Dyrektora Centralnego Laboratorium Przemysłu Paszowego dnia 1 marca 1988 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1988 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 5/1988, poz. 12)

2.1.4.4. Obliczenie wyniku. Zawartość DOT w premiksie obliczyć w g/kg wg wzoru

$$X = \frac{A}{m} \quad (1)$$

w którym:

A — zawartość DOT w roztworze badanym odczytana z krzywej, $\mu\text{g}/5,5 \text{ ml}$,

m — odważka próbki, g.

2.1.4.5. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników dwu równoległych oznaczeń, różniących się nie więcej niż 5% błędu względnego. Wynik podać z dokładnością do drugiego miejsca dziesiętnego.

2.2. Oznaczanie DOT w mieszankach paszowych

2.2.1. Zasada oznaczania polega na ekstrakcji DOT z mieszanki acetonitrylem, oczyszczeniu ekstraktu za pomocą tlenu glinu i przefiltrowaniu. Część filtratu odparowuje się do sucha. Suchą pozostałość rozpuszcza się w dwumetyloformamidzie i po dodaniu etylenodwuminy mierzy się absorbancję barwnego roztworu przy długości fali 560 nm.

2.2.2. Odczynniki, roztwory i materiały. Do analizy, jeżeli nie zaznaczono inaczej, należy stosować wyłącznie odczynniki cz.d.a. oraz wodę destylowaną lub wodę o równoważnej czystości.

a) Etylenodwumina (minimum 98%).

b) Acetonitryl 85%(V/V).

c) Dwumetyloformamid 95%(V/V).

d) Tlenek glinu do chromatografii kolumnowej, obojętny stopień aktywności II/III.

e) Roztwór wzorcowy DOT. Zważyć z dokładnością 0,0001 g wzorca DOT w ilości 50 mg i przenieść za pomocą rozcieńczonego acetonitrylu (2.2.2b) do kolby pomiarowej pojemności 100 ml. Po całkowitym rozpuszczeniu DOT uzupełnić kolbę do kreski rozcieńczonym acetonitrylem i zawartość wymieszać (1 ml tego roztworu zawiera 500 μg DOT).

Roztwory DOT i ekstrakty mieszanek są wrażliwe na światło i muszą być chronione przez stosowanie szkła oranżowego, lub stosowanie folii aluminiowej i wykonanie oznaczania w zaciemnionym pokoju. Wszelkie prace z acetonitrylem i etylenodwumina, wykonywać należy pod wyciągiem i w rękawiczkach.

f) Sączki twarde.

2.2.3. Aparatura i przyrządy

a) Spektrofotometr z kuwetami o grubości 1 cm, z przykrywkami.

b) Łaźnia wodna.

c) Suszarka do włosów.

2.2.4. Wykonanie oznaczania

2.2.4.1. Przygotowanie ekstraktu. Odważyć około 10 g zmielonej mieszanki paszowej z dokładnością 0,001 g, przenieść do kolby stożkowej pojemności 300 ml i wlać 100,0 ml rozcieńczonego acetonitrylu

(2.2.2b). Kolbę zamknąć korkiem i zawartość kolby mieszać aż do momentu uzyskania zawiesiny. Następnie umieścić kolbę w łaźni wodnej o temperaturze 50°C na 15 min. Zawartość kolby w tym czasie kilkakrotnie zamieszać.

Po wyjęciu z łaźni, ochłodzić kolbę w strumieniu zimnej wody do temperatury pokojowej. Do kolby dodać 20 g tlenu glinu (2.2.2d) i zawartość wytrząsać energicznie przez 5 min. Odstawić kolbę na kilka minut w celu opadnięcia osadu. Następnie przesączyć ekstrakt przez twardy sączek.

2.2.4.2. Przeprowadzenie pomiaru. Do dwu zlewek pojemności 25 ml oznaczonych A i B przenieść za pomocą pipety po 2,0 ml filtratu. Zawartość zlewek odparować do sucha za pomocą suszarki do włosów. Czynność wykonywać pod dygestorium, przy uruchomionym wyciągu i opuszczonej szybie. Po ostygnięciu zlewek dodać do zlewki A 5,0 ml rozcieńczonego dwumetyloformamidu (2.2.2c), a do zlewki B 1,0 ml rozcieńczonego dwumetyloformamidu. Rozpuścić suchą pozostałość poprzez mieszanie w ciągu kilku minut. Następnie do zlewki B dodać 4,0 ml etylenodwuminy (2.2.2a) i zawartość zlewki wymieszać. Po upływie 5 min zmierzyć absorbancję roztworów z obu zlewek w spektrofotometrze w kuwetach z przykrywkami o grubości 1 cm, przy długości fali 560 nm w stosunku do rozcieńczonego dwumetyloformamidu (2.2.2c) jako próby ślepej. Z uzyskanych pomiarów obliczyć skorygowaną absorbancję przez odjęcie od absorbancji roztworu ze zlewki B absorbancję roztworu ze zlewki A .

2.2.4.3. Sporządzanie krzywej wzorcowej. Do kolby pomiarowej pojemności 50 ml odmierzyć 2,0 ml roztworu wzorcowego DOT (2.2.2e) i uzupełnić kolbę do kreski rozcieńczonym acetonitrylem (2.2.2b). Zawartość wymieszać. Do czterech zlewek pojemności 25 ml odmierzyć kolejno 0,5; 1,0; 1,5 i 2,0 ml przygotowanego roztworu wzorcowego. Zawartość zlewek odparować do sucha za pomocą suszarki do włosów. Dalej postępować tak jak opisano w 2.2.4.2 dla zlewki oznaczonej literą B . Wykreślić zależność absorbancji od stężenia DOT.

2.2.4.4. Obliczanie wyniku. Zawartość DOT w mieszanke obliczyć w mg/kg wg wzoru

$$X = \frac{A \cdot 250}{m} \quad (2)$$

w którym:

A — stężenie DOT w roztworze badanym, odczytane z krzywej, $\mu\text{g}/\text{ml}$,

m — naważka próbki, g,

250 — współczynnik przeliczeniowy.

2.2.4.5. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników dwu równoległych oznaczeń, różniących się nie więcej niż 5% błędu względnego. Wynik podać z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

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

2. Autor projektu normy — mgr Bożena Nogalska — Zakład Biochemii i Analizy Instrumentalnej Centralnego Laboratorium Przemysłu Paszowego, Lublin.