

PASZE	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-89
	Pasze	9160-41
	Oznaczanie Alimetu w premiksach i mieszankach paszowych	
		Grupa katalogowa 1549

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest metoda oznaczania Alimetu w premiksach i mieszankach paszowych.

1.2. Określenia. Alimet jest to 88%(m/m) wodny roztwór kwasu hydroksytiomasłowego. Związek ten jest hydroksyanalogiem aminokwasu metioniny.

1.3. Zakres stosowania metody. Metodę stosuje się do oznaczania Alimetu w premiksach i mieszankach paszowych, zawierających w 1 kg powyżej 100 mg tego hydroksyanalogu.

2. METODA BADANIA

2.1. Zasada oznaczania polega na ekstrakcji Alimetu 10%(V/V) roztworem acetonitrylu i oznaczeniu techniką chromatografii cieczowej wysokociśnieniowej.

2.2. Odczynniki i roztwory. Do analizy, jeżeli nieznaczono inaczej, należy stosować wyłącznie odczynniki cz.d.a. oraz wodę destylowaną lub wodę o równoważnej czystości.

a) Acetonitryl.

b) Amoniak.

c) Roztwór 10%(V/V) acetonitrylu (poz. a) w wodzie. Roztwór za pomocą amoniaku doprowadzić do pH = 10.

d) Roztwór kwasu fosforowego o $c(\text{H}_3\text{PO}_4) = 0,01 \text{ mol/l}$

e) Roztwór eluujący. Zmieszać 23 części acetonitrylu (poz. a) z 77 częściami kwasu fosforowego (poz. d). Za pomocą amoniaku doprowadzić do pH = 3,2.

f) Roztwór wzorcowy Alimetu. Sporządzić roztwory wzorcowe Alimetu w mieszaninie eluującej (poz. e) o stężeniach 0,1; 0,2 i 0,3 mg/ml.

2.3. Aparatura i przyrządy

a) Chromatograf cieczowy wysokociśnieniowy z detektorem UV, umożliwiający pomiary przy długości fali 214 nm i rejestratorem lub integratorem.

b) Wirówka laboratoryjna.

c) Wstrząsarka laboratoryjna.

d) Próbówki wirówkowe z korkiem.

2.4. Oznaczanie Alimetu w mieszankach paszowych

2.4.1. Przygotowanie ekstraktu. Odważyć 20 g jednorodnej próbki z dokładnością do 0,01 g i umieścić w kolbie stożkowej pojemności 300 ml. Dodać 100 ml roztworu do ekstrakcji (2.2c), zamknąć korkiem i wytrząsać przez 10 min na wstrząsarce laboratoryjnej. Po sedymentacji zawiesiny część ekstraktu odwirować w ciągu 5 min, przy szybkości 4000 obrotów/min.

Uzyskany roztwór dozuje się na kolumnę chromatografu.

2.4.2. Ustalenie warunków rozdzielania. Nową kolumnę należy płukać acetonitrylem przez 12 h z szybkością 1 ml/min. Po zakończeniu przemywania, przed kolumnę chromatograficzną, dołączyć wkład filtracyjny (ASC Sep Pack C₁₈) i kolumnę przemywać fazą ruchomą (2.2e) z szybkością 1,5 ml/min, aż do uzyskania płaskiej linii podstawy.

Następnie wstrzykiwać kilkakrotnie roztwór wzorcowy, aż do uzyskania powtarzalnej wysokości piku Alimetu na chromatografie ¹⁾.

2.4.3. Kalibracja i pomiar. Przed przystąpieniem do analizy próbki, ustalić zakres liniowej reakcji detektora na podstawie przygotowanego stężenia roztworu wzorcowego lub przez analizę pasz o znanej zawartości Alimetu. Wykreślić zależność wysokości pików od stężenia Alimetu w roztworach pomiarowych. Zależność ta powinna mieć charakter liniowy i należy ją sprawdzać codziennie, przy każdej serii pomiarów. Dla określenia poziomu Alimetu w badanych próbkach, stosować sprawdzony zakres stężeń. Próbki poza tym zakresem należy rozcieńczyć. W celu wykluczenia interwencji innych związków, należy przeprowadzić analizę paszy nie zawierającej Alimetu. Brak piku o czasie retencji charakterystycznym dla Alimetu, wyklucza interferencję.

¹⁾ Przykładowe parametry pracy chromatografu są podane w Informacjach dodatkowych p. 3.

Zgłoszona przez Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego
Ustanowiona przez Dyrektora Centralnego Laboratorium Przemysłu Paszowego dnia 20 listopada 1989 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 marca 1990 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 2/1990, poz. 3)

2.4.4. Obliczanie wyników. Zawartość Alimetu w mieszance (**X**) obliczyć w mg/kg wg wzoru

$$X = \frac{H_p \cdot C_w \cdot l}{H_w \cdot m}$$

w którym:

- H_p** - wysokość piksu Alimetu na chromatogramie próby badanej,
H_w - wysokość piksu Alimetu na chromatogramie roztworu wzorcowego,
C_w - stężenie Alimetu w roztworze wzorcowym, µg/ml,
m - naważka próby, g,
l - współczynnik rozcieńczenia.

2.5. Oznaczanie Alimetu w premiksach. Odważyć 5 g premiksu z dokładnością do 0,001 g i umieścić w kolbie stożkowej pojemności 200 ml. Dodać 50 ml roztworu do ekstrakcji (2.2c) i przeprowadzić ekstrakcję Alimetu w sposób opisany dla mieszanki (2.4.1). Pobrać 5 ml uzyskanego roztworu do kolby pomiarowej pojemności 100 ml i uzupełnić do kreski roztworem do ekstrakcji (2.2c).

Uzyskany roztwór dozuje się na kolumnę chromatografu.

2.6. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik końcowy należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników dwóch równoległych oznaczeń, różniących się nie więcej niż 10% błędu względnego.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę - Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego, Lublin.

2. Autor projektu normy - mgr Bożena Nogalska - Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego, Lublin.

3. Warunki pracy chromatografu

- a) Temperatura pracy - temperatura pokojowa.
 b) Detektor UV - długość fali 214 nm.

c) Kolumna - Si 60 NH₂, dp = 7 µm, długość 25 cm, średnica 4,9 mm.

d) Przesuw papieru rejestracyjnego - 0,6 cm/min.

e) Przepływ fazy ruchomej - 1,5 ml/min.

f) Objętość dozowania - 20 µl.

g) Czas retencji Alimetu - około 12 min.

Podane parametry pracy chromatografu należy traktować jako przykładowe.