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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32195— 2013 (ISO 13903:2005)

КОРМА, КОМБИКОРМА

Метод определения содержания аминокислот

(ISO 13903:2005, Animal feeding stuffs — Determination of amino acids content, MOD)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 004)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г. № 44)

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
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 2063-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32195—2013 (ISO 13903:2005) введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту ISO 13903:2005 «Корма для животных. Определение содержания аминокислот» («Animal feeding stuffs — Determination of amino acids content», MOD) путем изменения отдельных фраз (слов, значений показателей, ссылок), которые выделены в тексте курсивом.

Международный стандарт разработан Подкомитетом ISO/TC 10 «Корма для животных» Технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Дополнительные примечания, разделы, приложение и таблица выделены полужирным курсивом.

В настоящем стандарте заменены единицы измерения объема «литр» на «кубический дециметр», «миллилитр» на «кубический сантиметр» для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001, пункт 4.14.1.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6).

Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта приведено в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2020 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2005 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2016, 2020

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 2
3 Сущность метода . . . 2
4 Лабораторные оборудование, посуда и материалы . . . 3
5 Реактивы и материалы . . . 3
6 Приготовление растворов . . . 4
7 Отбор проб . . . 5
8 Подготовка проб . . . 6
9 Проведение испытаний . . . 6
10 Обработка результатов . . . 8
11 Прецизионность . . . 9
12 Использование стандартных образцов . . . 9
13 Уточнения по определению содержания аминокислот . . . 9
Приложение А (справочное) Примеры хроматограмм . . . 10
Приложение Б (справочное) Результаты межлабораторных испытаний . . . 12
Приложение ДА (справочное) Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта . . . 17

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА, КОМБИКОРМА

Метод определения содержания аминокислот

Feeds, compound feeds. Method for determination of amino acids

Дата введения — 2015—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт *распространяется на корма, комбикорма, премиксы и устанавливает метод* определения содержания свободных (синтетических и натуральных) аминокислот и общего содержания (свободных и связанных *форм* в сумме) отдельных аминокислот с применением аминокислотного анализатора или ВЭЖХ-оборудования. Метод *позволяет определять* следующие аминокислоты.

- цистин и цистеин в сумме;
- метионин;
- лизин;
- треонин;
- аланин;
- аспарагиновую кислоту;
- глутаминовую кислоту;
- глицин;
- гистидин;
- изолейцин;
- лейцин;
- фенилаланин;
- пролин;
- серин;
- тирозин;
- валин.

Методом нельзя различить соли аминокислот, а также D- и L-*стереоизомеры*.

Метод не распространяется на определение триптофана или гидрокси-аналогов аминокислот. Нижние пределы обнаружения и количественного определения аминокислот зависят от хроматографического оборудования и *составляют:*

а) для свободных *форм* аминокислот.

1) лизина — 0,035 г/кг;
2) метионина — 0,035 г/кг;
3) треонина — 0,03 г/кг;

б) для общего *содержания (свободных и связанных форм в сумме)* отдельных аминокислот:

1) лизина — 0,3 г/кг;
2) метионина — 0,25 г/кг;
3) суммы цистина и цистеина — 0,35 г/кг;
4) треонина — 0,2 г/кг.

Примечание — Нижний предел количественного обнаружения может быть изменен, но это должно быть подтверждено пользователем.

Издание официальное

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения).

ГОСТ 177 Водорода перекись. Технические условия

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

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4478 Реактивы. Кислота сульфосалициловая 2-водная. Технические условия

ГОСТ 5848 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 9293 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 13496.0 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 22280 Реактивы. Натрий лимоннокислый 5,5-водный. Технические условия

ГОСТ 24104[1)] *Весы лабораторные. Общие технические требования*

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

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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (www.easc.by) или по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

3.1 Определение свободных *форм* аминокислот

Свободные *формы* аминокислот экстрагируют разбавленной соляной кислотой. Экстрагированные вместе с аминокислотами азотистые макромолекулы осаждают сульфосалициловой кислотой и отфильтровывают. Фильтрат доводят до *значения* 2,20 ед. pH.

Аминокислоты разделяют ионообменной хроматографией, *проводят* реакцию с нингидрином и определяют *их содержание* фотометрическим детектированием *при длине волны* 570 нм.

3.2 Определение общего содержания (свободных и связанных форм в сумме) отдельных аминокислот

Сущность выбранного метода зависит от определяемых отдельных аминокислот.

Перед гидролизом цистин (цистеин) и метионин должны окисляться до цистеиновой кислоты и метионин сульфона соответственно.

Тирозин должен определяться в гидролизатах неокисленных проб.

Все другие аминокислоты, *указанные в разделе* 1, могут определяться как в окисленных, так и неокисленных *пробах*. Окисление проводят при температуре 0 °С смесью надмуравьиной кислоты с фенолом. Избыточный окислитель разлагается дисульфидом натрия. Окисленные или неокисленные пробы подвергают гидролизу с соляной кислотой молярной концентрации 6 моль/дм^3 в течение 23 ч. Гидролизат доводят до 2,20 ед. pH. Аминокислоты разделяют ионообменной хроматографией, *дериватизируют* нингидрином и детектируют при *длине волны* 570 нм (440 нм для пролина).

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008 «Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания».

4 Лабораторные оборудование, посуда и материалы

4.1 Колбы круглодонные *К-1(2)—100(250)—19/26(29/32, 34/36)-ТХС по ГОСТ 25336.*

4.2 *Емкость* из боросиликатного стекла *вместимостью* 100 *см*^{3} с завинчивающейся крышкой с резиновой или тефлоновой прокладкой (например, Duran, Schott) термостойкая.

4.3 Шкаф сушильный с принудительной вентиляцией и регулируемой температурой (110 ± 2) °С.

4.4 pH-метр, *с погрешностью определения* не более ± 0,001 ед. pH.

4.5 Фильтр мембранный *с размером пор* 0,2 мкм.

4.6 Центрифуга.

4.7 Испаритель вакуумный роторный.

4.8 Шейкер механический или мешалка магнитная.

4.9 Анализатор аминокислотный или ВЭЖХ-оборудование с ионообменной колонкой, устройством для послеколоночной дериватизации с нингидрином и фотометрическим детектором.

Колонка, заполненная сульфированными смолами из полистирола, способными разделять аминокислоты друг от друга и других нингидрин-позитивных материалов. Движение потоков буфера и нингидрина обеспечивается насосами с постоянным потоком ± 0,5 % в период испытания анализируемых проб и градуировки.

Некоторые аминокислотные анализаторы *позволяют* анализировать гидролизаты, в которых содержатся натрий с *молярной* концентрацией *с* = 0,8 моль/*дм*^{3} и остатки муравьиной кислоты из стадии окисления. Другие анализаторы не дают удовлетворительного разделения определенных аминокислот, если гидролизат содержит избыток муравьиной кислоты и/или высокую *молярную* концентрацию ионов натрия. В этом случае гидролизат выпаривают в вакууме при температуре 40 °С до *объема* примерно 5 *см*^{3} и до *приемлемого значения* pH.

4.10 Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г и допускаемой погрешностью ± 0,0001 г.

4.11 Холодильники стеклянные лабораторные обратимые по ГОСТ 25336.

4.12 Колбы мерные 1(2)—50(250, 1000)—2 по ГОСТ 1770.

4.13 Колбы мерные вместимостью 200 см^3.

4.14 Колбы конические Кн-2—1000—42-ТХС по ГОСТ 25336.

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

4.16 Стаканы В(Н)-1(2)—50(100, 1000) ТХС по ГОСТ 25336.

4.17 Цилиндры мерные 1(2)—25(100) по ГОСТ 1770.

4.18 Сито с размером стороны квадратной ячейки 0,5 мм.

4.19 Шарики стеклянные.

4.20 Палочка стеклянная с изогнутым концом.

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

5 Реактивы и материалы

5.1 Вода дважды дистиллированная или эквивалентного качества (проводимость менее 10 мкс).

5.2 Пероксид водорода *по ГОСТ 177, 30 %, медицинский.*

5.3 Муравьиная кислота *по ГОСТ 5848, ч. д. а.*

5.4 Кислота соляная *по ГОСТ 3118,* ρ_{20} *= 1,19 г/см*^{3}.

5.5 2,2'-Тиодиэтанол (тиодигликоль).

5.6 Эфир петролейный с температурой кипения от 40 °С до 60 °С.

5.7 Норлейцин или любые другие соединения, пригодные для использования в качестве внутреннего стандарта.

5.8 Азот *по ГОСТ 9293, ос. ч.*

5.9 ***Стандарты*** **аминокислот**

5.9.1 **Стандарты** ***определяемых аминокислот***

Используются чистые соединения, не содержащие кристаллизованную воду. Для этого реактивы высушивают в вакууме над *оксидом фосфора* (P_2O_5) или *концентрированной серной кислотой* H_2SO_4 за неделю перед использованием.

5.9.2 Кислота цистеиновая.
5.9.3 Метионин сульфон.
5.10 Гидроокись натрия по ГОСТ 4328, х. ч.
5.11 Фенол.
5.12 Кислота сульфосалициловая 2-водная по ГОСТ 4478, ч. д. а.
5.13 Натрий лимоннокислый 5,5-водный по ГОСТ 22280.
5.14 Натрий хлористый по ГОСТ 4233.
5.15 1-октанол.
5.16 Натрия дисульфит.
5.17 Нингидрин.
5.18 Оксид фосфора (V).
5.19 Кислота серная по ГОСТ 4204.

Примечание — Допускается использование реактивов аналогичной или более высокой квалификации, изготовленных по другой нормативной или технической документации, в том числе импортных.

6 Приготовление растворов

***6.1 Приготовление* раствора натрия гидроокиси *молярной концентрации* 7,5 моль/*дм*^{3}**

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.12) помещают* 300,0 г гидроокиси натрия (*см. 5.10*), растворяют в воде (*см. 5.1*) и доводят *объем раствора водой до метки.*

***6.2 Приготовление* раствора натрия гидроокиси *молярной концентрации* 1 моль/*дм*^{3}**

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.12) помещают* 40,0 г гидроокиси натрия (*см. 5.10*), растворяют в воде (*см. 5.1*) и доводят *объем раствора водой до метки*.

***6.3 Приготовление* раствора муравьиной кислоты с фенолом**

В колбе вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.12*) смешивают 889 г муравьиной кислоты (*см. 5.3*) и 111 *см*^{3} воды (*см. 5.1*), *затем* добавляют 4,73 г фенола (*см. 5.11*).

***6.4 Приготовление* смеси для гидролиза — *раствора* соляной кислоты *молярной концентрации* 6 моль/*дм*^{3}, содержащего 1 г фенола в 1 *дм*^{3}**

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.12) помещают* 492 *см*^{3} соляной кислоты (*см. 5.4*), добавляют 1 г фенола (*см. 5.11*) и доводят *объем раствора* водой (*см. 5.1)* до *метки*.

***6.5 Приготовление* смеси для экстракции — *раствора* соляной кислоты *молярной концентрации* 0,1 моль/*дм*^{3}, содержащего 2 % тиодигликоль**

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.12) помещают* 8,2 *см*^{3} соляной кислоты (*см. 5.4*), добавляют примерно 900 *см*^{3} воды (*см. 5.1*), затем добавляют 20 *см*^{3} тиодигликоля (*см. 5.5*) и доводят объем раствора до метки водой.

Примечание — Не допускается смешивать непосредственно соляную кислоту и тиодигликоль.

***6.6 Приготовление раствора* 5-сульфосалициловой кислоты *массовой долей* 6 %**

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.12) помещают* 60 г 2-*водной* сульфосалициловой кислоты, растворяют в воде (см. 5.1) и доводят *объем раствора* до метки.

***6.7 Приготовление* смеси для окисления**

В небольшом стакане смешивают 0,5 *см*^{3} перекиси водорода (*см. 5.2*) с 4,5 *см*^{3} раствора муравьиной кислоты с фенолом (*см. 6.3*). Выдерживают при температуре от 20 °С до 30 °С в течение 1 ч, чтобы получить надмуравьиную кислоту, затем охлаждают в ледяной бане в *течение* 15 мин. *Смесь готовят* перед добавлением к образцу.

Примечание — Следует избегать попадания на кожу и использовать защитную одежду.

***6.8 Приготовление* цитратного буфера — *раствора молярной концентрации* ионов натрия 0,2 моль/*дм*^{3}, 2,20 ед. pH**

В стакан вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.16) наливают* примерно 800 *см*^{3} воды (*см.* 5.1) и растворяют *в ней* 19,61 г натрия *лимоннокислого 5,5-водного (см. 5.13)*, 5 *см*^{3} тиодигликоля (*см. 5.5*), 1 г фенола (*см. 5.11*) и 16,50 *см*^{3} соляной кислоты (*см. 5.4*). *Доводят кислотность раствора* до 2,20 ед. pH, *переливают раствор в мерную колбу вместимостью 1000 см*^{3} *(см. 4.12) и доводят объем раствора в колбе до метки* водой.

***6.9 Приготовление* буфера для элюирования**

Буфер готовят в соответствии с *инструкцией* к используемому анализатору (*см.* 4.9).

***6.10 Приготовление* нингидрин-реагента**

Реактив готовят в соответствии с *инструкцией* к используемому анализатору (*см. 4.9*).

***6.11 Приготовление* стандартных растворов аминокислот**

6.11.1 Все стандартные растворы хранят при температуре ниже 5 °С.

6.11.2 Готовят основной стандартный раствор аминокислот в соляной кислоте *молярной концентрации* каждой аминокислоты 2,5 мкмоль/*см*^{3}.

Примечание — Допускается использовать готовые растворы.

***6.11.3 Приготовление* стандартного раствора цистеиновой кислоты и метионин сульфона *молярной концентрации* 1,25 мкмоль/*см*^{3}**

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 *(см. 4.12) помещают* 0,2115 г цистеиновой кислоты (*см. 5.9.2*) и 0,2265 г метионина сульфона (*см. 5.9.3*), растворяют в цитратном буфере (*см. 6.8*) и доводят буфером *объем раствора* в колбе до отметки. Этот раствор не используют, если основной стандартный раствор (*см. 6.11.2*) содержит цистеиновую кислоту и метионин сульфон.

Срок хранения раствора — не более одного года.

***6.11.4 Приготовление* стандартного раствора внутреннего стандарта, например норлейцина, *молярной концентрации* 20 мкмоль/*см*^{3}**

В мерную колбу вместимостью 250 см^3 *(см. 4.12) помещают* 0,6560 г норлейцина (*см. 5.7*), растворяют в цитратном буфере (*см. 6.8*) и доводят буфером *объем раствора в колбе* до отметки.

Срок хранения раствора — не более 6 мес.

***6.11.5* Приготовление градуировочного стандартного раствора аминокислот для использования с гидролизатами *молярной концентрации* цистеиновой кислоты и метионин сульфона 0,1 мкмоль/*см*^{3} и *молярной концентрации* других аминокислот 0,2 мкмоль/*см*^{3}**

В стакан *вместимостью* 100 *см*^{3} *помещают* 2,2 г хлористого натрия (*см. 5.14*) и растворяют его в 30 *см*^{3} цитратного буфера (*см. 6.8*). Добавляют 4,00 *см*^{3} основного стандартного раствора аминокислот (*см. 6.11.2*), 4,00 *см*^{3} стандартного раствора цистеиновой кислоты и метионин сульфона (*см. 6.11.3*) и 0,50 *см*^{3} стандартного раствора внутреннего стандарта (*см. 6.11.4*), если он используется. *Доводят значение* pH до 2,20 *раствором* гидроокиси натрия *молярной концентрации 1 моль/дм*^{3} (*см. 6.2*). Переносят количественно в мерную колбу *вместимостью* 50 *см*^{3}, доводят *объем раствора* в колбе до метки цитратным буфером (*см. 6.8*).

Срок хранения раствора — не более 3 мес.

Примечание — Уточнения по приготовлению раствора приведены в 13.1.

***6.11.6 Приготовление* градуировочного раствора стандартных аминокислот для использования с гидролизатами, подготовленными в соответствии с *9.2.3.2*, и для использования с экстрактами (*см. 9.1*)**

Раствор готовят в соответствии с *6.11.5*, но при этом исключают хлорид натрия.

Срок хранения раствора — не более 3 мес.

7 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 13496.0.

8 Подготовка проб

Пробу тщательно перемешивают и измельчают *до* прохода через сито (*см. 4.18*). Перед измельчением пробы с высокой влажностью должны быть высушены при температуре не выше 50 °С или лиофилизированы, а пробы с высоким содержанием жира — обезжирены петролейным эфиром (*см. 5.6*).

9 Проведение испытаний

9.1 Определение содержания свободных *форм* аминокислот

На весах (см. 4.10) взвешивают от (*1,0000 ± 0,0002*) г до (*5,0000 ± 0,0002*) г пробы, подготовленной в соответствии с *разделом 8*, и *количественно переносят* в коническую колбу (*см. 4.14*), добавляют 100,0 *см*^{3} экстракционного раствора (*см. 6.5*). Встряхивают смесь в течение 60 мин с помощью механического шейкера или магнитной мешалки (*см.* 4.8), *дают отстояться*, затем 10,0 *см*^{3} надосадочной жидкости переносят пипеткой (*см. 4.15*) в стакан вместимостью 100 *см*^{3}.

При перемешивании добавляют 5,0 *см*^{3} сульфосалициловой кислоты (*см. 6.6*) и продолжают *перемешивание* с помощью магнитной мешалки в течение 5 мин. *Раствор* фильтруют или центрифугируют для того, чтобы удалить осадок. Помещают 10,0 *см*^{3} полученного раствора в стакан *вместимостью* 100 *см*^{3} и *доводят кислотность раствора* до 2,20 ед. pH с использованием раствора гидроксида натрия (*см. 6.2*). *Количественно* переносят в мерную колбу соответствующего объема (*необходимого для хроматографии)* и доводят объем раствора до метки цитратным буфером (*см. 6.8*).

Если используется внутренний стандарт, добавляют 1,00 *см*^{3} внутреннего стандарта (*см. 6.11.4*) на каждые 100 *см*^{3} окончательного *объема* раствора и доводят *объем* до метки цитратным буфером (*см. 6.8*).

Хроматографию проводят в соответствии с *9.3*.

Если полученный экстракт невозможно проанализировать ВЭЖХ в тот же день, его следует хранить при температуре *менее* 5 °С.

9.2 Определение общего *содержания (свободных и связанных форм в сумме)* отдельных аминокислот

9.2.1 Окисление

Взвешивают от (*0,1000 ± 0,0002*) г до (*1,0000 ± 0,0002*) г пробы, подготовленной в соответствии с *разделом 8:*

- в круглодонную колбу *вместимостью* 100 *см*^{3} (*см.* 4.1) для открытого гидролиза (*см. 9.2.2.3*),
- или в круглодонную колбу *вместимостью* 250 *см*^{3} (*см. 4.1*), если требуется низкая концентрация натрия (*см. 9.2.3.2*),
- или в *емкость* (*см. 4.2*) для закрытого гидролиза (*см. 9.2.2.4*).

Взятая для анализа проба должна содержать около 10 мг азота, а содержание *в ней* влаги не должно превышать 100 мг.

Колбу или емкость *с пробой* помещают на ледяную баню, *после* охлаждения до температуры 0 °С добавляют 5 *см*^{3} смеси для окисления (*см. 6.7*) и перемешивают, используя стеклянную палочку с загнутым кончиком (*см. 4.20*). Закрывают колбу или емкость, содержащую палочку, герметичной крышкой. Ледяную баню с закрытой посудой помещают в холодильник при температуре 0 °С. Через 16 ч *сосуд* достают из холодильника и *удаляют* избыток смеси для окисления путем добавления 0,84 г дисульфита натрия.

Далее проводят гидролиз по *9.2.2.1*.

9.2.2 Гидролиз

9.2.2.1 Гидролиз окисленных проб

В окисленную пробу, подготовленную в соответствии с *9.2.1*, добавляют 25 *см*^{3} смеси для гидролиза (*см. 6.4*), смывая при этом остатки пробы со стенок сосуда и палочки. В зависимости от используемого способа гидролиза *продолжают подготовку* по *9.2.2.3 для открытого гидролиза* или по *9.2.2.4 для закрытого гидролиза*.

9.2.2.2 Гидролиз неокисленных проб

Взвешивают от *(0,1000 ± 0,0002)* г до *(1,0000 ± 0,0002)* г пробы, подготовленной в соответствии с *разделом 8*, в круглодонную колбу *вместимостью* 100 или 250 *см*^{3} (*см.* 4.1) или в *емкость* вместимостью 100 *см*^{3}, снабженную винтовой крышкой (*см.* 4.2). Проба должна содержать около 10 мг азота. Осторожно добавляют 25 *см*^{3} смеси для гидролиза (*см. 6.4*) и перемешивают с пробой. *Далее* действуют в соответствии с *9.2.2.3* или *9.2.2.4*.

9.2.2.3 Открытый гидролиз

К смеси в колбе, подготовленной в соответствии с *9.2.2.1* или *9.2.2.2*, добавляют три стеклянных шарика и кипятят с обратимым холодильником непрерывно в течение 23 ч. После завершения гидролиза промывают холодильник 5 *см*^{3} цитратного буфера (*см. 6.8*), отключают колбу и охлаждают на ледяной бане. Продолжают подготовку в соответствии с *9.2.3*.

9.2.2.4 Закрытый гидролиз

Помещают *колбу или емкость*, содержащую смесь, приготовленную в соответствии с *9.2.2.1* или *9.2.2.2*, в сушильный шкаф (*см.* 4.3) с температурой 110 ° С. В течение первого часа, с целью предотвращения повышения давления (в связи с выделением газообразных веществ) и *для* избежания взрыва, не закрывают *емкость* крышкой, размещая ее поверх сосуда. Через час закрывают *емкость* крышкой и оставляют в сушильном шкафу на 23 ч. По завершении гидролиза достают *колбу или емкость* из сушильного шкафа, осторожно открывают крышку и охлаждают на ледяной бане.

Используя цитратный буфер (*см. 6.8*), содержимое емкости количественно переносят в стакан или круглодонную колбу *вместимостью* 250 *см*^{3}, в зависимости от способа регулировки значения pH (*см. 9.2.3*).

Далее продолжают подготовку в соответствии с *9.2.3*.

***9.2.3 Установка значения* pH**

9.2.3.1 В зависимости от чувствительности аминокислотного анализатора к натрию *для установки значения* pH действуют в соответствии с *9.2.3.2* или *9.2.3.3*.

9.2.3.2 Когда используется аминокислотный анализатор или хроматографическая система, требующие низкой концентрации натрия, рекомендуется добавлять стандартный раствор внутреннего стандарта (*см. 6.11.4*).

В этом случае в гидролизат перед выпариванием добавляют 2,00 *см*^{3} раствора внутреннего стандарта (*см. 6.11.4*).

В гидролизат, полученный в соответствии с *9.2.2.3* или *9.2.2.4*, добавляют две капли 1-октанола.

С помощью роторного испарителя (*см.* 4.7) в вакууме при температуре 40 °С уменьшают объем до 5—10 *см*^{3}. Если гидролизат случайно выпарился до объема менее 5 *см*^{3}, то его отбрасывают и анализ *проводят сначала*.

Раствором гидроокиси натрия *молярной концентрации* 1 моль/*дм*^{3} (*см. 6.2*) *доводят* кислотность раствора до 2,20 ед. pH и переходят к *9.2.4*.

9.2.3.3 Для хроматографической системы, не требующей низкой концентрации натрия, гидролизат, полученный в соответствии с *9.2.2.3* или *9.2.2.4*, частично нейтрализуют, осторожно добавляя при помешивании 17 *см*^{3} раствора гидроокиси натрия *молярной концентрации* 7,5 моль/*дм*^{3} *(см. 6.1)*, при этом температура раствора должна быть ниже 40 °С.

При комнатной температуре *доводят* кислотность раствора до 2,20 ед. pH *сначала* раствором гидроокиси натрия *молярной концентрации* 7,5 моль/*дм*^{3} *(см. 6.1), а потом* раствором гидроокиси натрия *молярной концентрации* 1 моль/*дм*^{3} *(см. 6.2). Продолжают подготовку* по *9.2.4*.

***9.2.4 Подготовка гидролизата* для хроматографии**

Гидролизат с установленным *значением* pH (*см. 9.2.3.2* или *9.2.3.3*) количественно переносят *с помощью* цитратного буфера (*см. 6.8*) в мерную колбу *вместимостью* 200 *см*^{3} (*см. 4.13*) и доводят буфером *объем раствора* в колбе до метки.

Если до этого еще не был использован внутренний стандарт, то добавляют 2,00 *см*^{3} внутреннего стандарта (*см. 6.11.4*) и доводят *объем раствора* в колбе до метки цитратным буфером (*см. 6.8*). *Раствор* тщательно перемешивают.

Далее переходят к хроматографии по *9.3*.

Если полученный экстракт невозможно проанализировать ВЭЖХ в тот же день, его хранят при температуре *ниже* 5 °С.

***9.3* Хроматография**

Перед проведением хроматографии *температуру* экстракта (*см. 9.1*) или гидролизата (*см. 9.2*) *доводят* до комнатной температуры. *Перемешивают* смесь и фильтруют необходимое количество через мембранный фильтр (*см. 4.5*). Полученный прозрачный раствор используют для ионообменной хроматографии (аминокислотный анализатор или ВЭЖХ-оборудование).

Введение пробы может быть выполнено вручную или автоматически. Важно, чтобы в колонку вводилось одинаковое количество (± 0,5 %) раствора стандарта и пробы, *за исключением* случаев, когда *применяется* внутренний стандарт (*для хроматографических систем, требующих низкой концентрации натрия*) *и когда* соотношение аминокислот в растворах стандарта и пробы должно быть как можно ближе.

Частота выполнения градуировки зависит от стабильности растворов нингидрина и аналитической системы. *Необходимо* разбавлять стандарт или образец в цитратном буфере (*см. 6.8*), чтобы площадь пика стандарта *составляла* от 30 % до 200 % площади пика аминокислот пробы.

Примеры хроматограмм стандарта аминокислот и окисленного образца корма приведены в приложении А.

Хроматограммы аминокислот могут незначительно отличаться в зависимости от типа анализатора и используемых *сорбентов*. Выбранная система должна быть способна отделять аминокислоты друг от друга и от нингидрин-позитивных материалов. В *процессе* работы хроматографической системы должна сохраняться линейная зависимость *при* изменении количества аминокислот, добавляемых в колонку.

При хроматографировании эквимолярного раствора упомянутых ниже аминокислот должно соблюдаться соотношение высот долин и пиков. Этот эквимолярный раствор должен содержать не менее 30 % от максимальной концентрации каждой аминокислоты, которую можно определить с помощью аминокислотного анализатора.

При разделении треонина и серина отношение высоты долины и высоты нижнего из двух перекрывающихся пиков аминокислот на хроматограмме не должно превышать соотношение 2:10 (если определяются только цистин/цистеин, метионин, треонин и лизин, то недостаточное разделение соседних пиков будет отрицательно влиять на их определение). Для всех других аминокислот разделение должно быть лучше, чем соотношение 1:10.

Система должна обеспечивать отделение лизина от «лизин артефактов» и орнитина.

10 Обработка результатов

Площади пиков стандартного образца и пробы измеряют для каждой аминокислоты.

Содержание аминокислоты в *анализируемой* пробе, *w*, г/кг, *вычисляют* по *формуле (1)* или, если используется внутренний стандарт, *по формуле (2):*

$$w = \frac{A_e \cdot c \cdot M \cdot V_e}{A_c \cdot m \cdot 1000}, \qquad (1)$$

$$w = \frac{A_e \cdot c \cdot M \cdot V_e}{A_c \cdot m \cdot 1000} \cdot \frac{A_{ic}}{A_{ie}}, \qquad (2)$$

где A_e — площадь пика аминокислоты в гидролизате и экстракте;

c — *молярная* концентрация аминокислоты в стандартном растворе, моль/*дм*^{3};

M — молекулярная масса аминокислоты;

V_e — общий объем гидролизата или рассчитанный общий объем разведений экстракта, *см*^{3};

A_c — площадь пика аминокислоты в стандартном растворе;

m — масса анализируемой пробы (с поправкой на первоначальную массу для сухих и/или обезжиренных образцов), г;

1000 — коэффициент пересчета единиц объема;

A_{ic} — площадь пика внутреннего стандарта в стандартном растворе;

A_{ie} — площадь пика внутреннего стандарта в экстракте или гидролизате.

В гидролизатах окисленной пробы цистин и цистеин определяют как цистеиновую кислоту, но вычисляют как сумму цистина и цистеина, используя молекулярную массу цистина M = 240,30 и вычисляя молекулярную массу цистеина M = 0,5 · 240,30 = 120,15.

В гидролизатах окисленной пробы метионин определяют как метионин сульфон, но рассчитывают как метионин с M = 149,21.

Свободную *форму* метионина определяют после экстракции как метионин, поэтому для расчетов применяют то же значение M = 149,21.

Общий объем разведения экстрактов (V_e), *см*^{3}, для определения свободных *форм* аминокислот (*см. 9.1*) вычисляют по формуле

$$V_e = 100 \cdot \frac{(10+5)}{10} \cdot \frac{V_{et}}{10}, \qquad (3)$$

где V_{et} — конечный объем экстракта, *см*^{3}.

Содержание аминокислоты допускается выразить в процентах, для этого результат, полученный по формулам (1) или (2) в граммах на килограмм, умножают на коэффициент 0,1.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Результаты межлабораторных испытаний *прецизионности метода* приведены в приложении *Б*. Значения, полученные в этих межлабораторных испытаниях, не могут быть применимы к диапазонам массовых концентраций и пробам, отличающимся от описанных.

11.2 Повторяемость

Абсолютное *расхождение* между результатами двух отдельных независимых испытаний, полученными одним и тем же методом на одной лабораторной пробе в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором на одном и том же *экземпляре* оборудования в течение короткого промежутка времени, не должно превышать более чем в 5 % случаев предел повторяемости *r*, г/кг, вычисленный по формуле

$$r = 2{,}83\ s_r, \tag{4}$$

где 2,83 — коэффициент,

s_r — стандартное отклонение повторяемости, указанное в таблице *Б*.2 (приложение Б) — для первого теста и таблицах *Б*.6 — *Б*.10 (приложение Б) — для второго теста, г/кг.

11.3 Воспроизводимость

Абсолютное *расхождение* между результатами двух отдельных испытаний, полученными одним и тем же методом на одной лабораторной пробе в разных лабораториях разными операторами на различных *экземплярах* оборудования, не должно превышать более чем в 5 % случаев предел воспроизводимости, *R*, г/кг, вычисленный по формуле

$$R = 2{,}83\ S_R, \tag{5}$$

где 2,83 — коэффициент,

S_R — стандартное отклонение воспроизводимости, указанное в таблице *Б*.4 (приложение Б) — для первого теста и таблицах *Б*.6—*Б*.10 (приложение Б) — для второго теста, г/кг.

12 Использование стандартных образцов

Правильность применения метода должна быть проверена путем повторных измерений стандартных образцов при их наличии. Рекомендуется калибровка с раствором стандартных образцов аминокислот.

13 Уточнения по определению содержания аминокислот

13.1 Из-за различий между аминокислотными анализаторами конечные массовые концентрации калибровочных растворов стандартных аминокислот (*см. 6.11.5* и *6.11.6*) и гидролизата (*см. 9.2.3*) приводятся в качестве ориентира. Они могут быть изменены, при этом должен быть проверен диапазон линейной зависимости анализатора для всех аминокислот.

Чтобы получить площади пика в середине диапазона, стандартный раствор разбавляют цитратным буфером.

13.2 При использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа гидролизатов экспериментальные условия должны быть оптимизированы в соответствии с рекомендациями завода-изготовителя.

13.3 Для кормов, содержащих более 1 % хлорида (концентраты, минеральные корма, кормовые добавки), количество определенного метионина может быть занижено. Для исключения потерь рекомендуется ввести дополнительный этап в подготовке: после добавления 5 $см^3$ смеси для окисления (*см. 9.2.1)* приливают 12,5 $см^3$ воды (*см. 5.1*) и перемешивают раствор на мешалке в течение 15 мин. Затем продолжают анализ в обычном порядке. Эта процедура не используется для количественного определения суммы цистеина и цистина.

Приложение А
(справочное)

Примеры хроматограмм

А.1 Примеры хроматограмм приведены на рисунках А.1 и А.2.

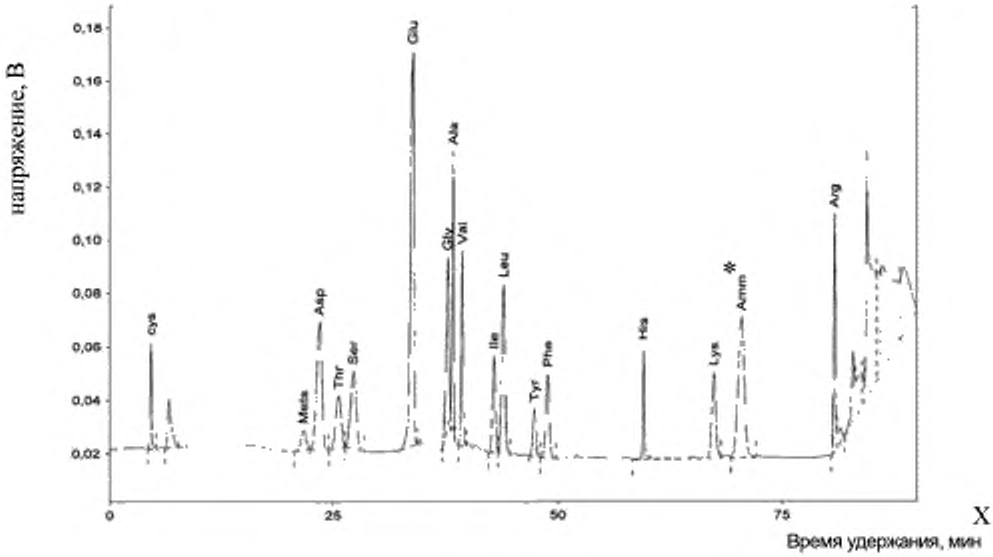


Рисунок А.1 — Хроматограмма стандарта аминокислот (570 нм)

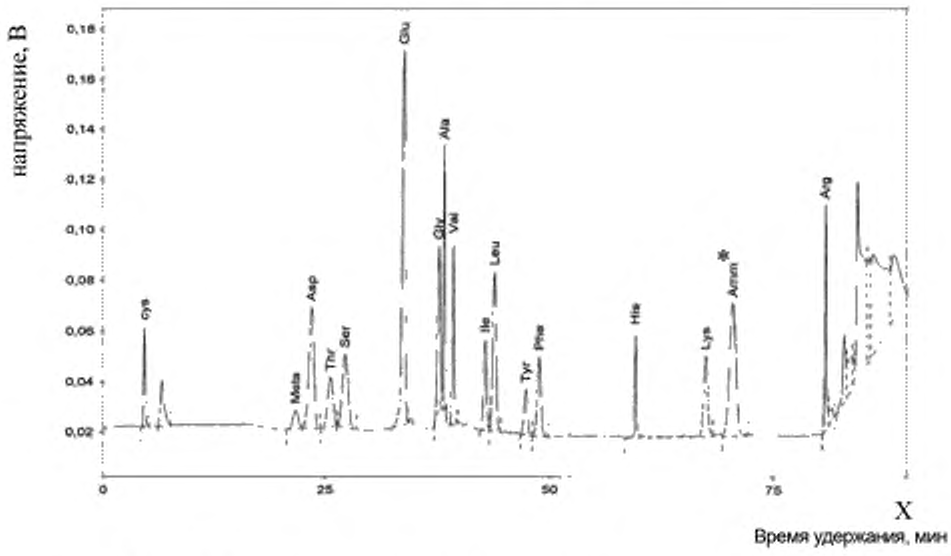


Рисунок *А.2 — Хроматограмма* окисленного образца свиного корма (570 нм)

* Amm — условное обозначение аммиака.

А.2 Условные обозначения аминокислот, указанные на хроматограммах, представлены в таблице А.1.

Таблица *А.1*

Наименование аминокислоты	*Обозначение аминокислоты на хроматограммах*
Цистин	*Cys*
Метионин сульфон	*Mets*
Аспарагиновая кислота	*Asp*
Треонин	*Thr*
Серин	*Ser*
Глутаминовая кислота	*Glu*
Глицин	*Gly*
Аланин	*Ala*
Валин	*Val*
Изолейцин	*Ile*
Лейцин	*Leu*
Тирозин	*Tyr*
Фенилаланин	*Phe*
Гистидин	*His*
Лизин	*Lys*
Аргинин	*Arg*

Приложение Б
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

Б.1 Первый тест

Метод был опробован в межлабораторных испытаниях, проведенных на международном уровне в 1990 году на четырех пробах (корм для свиней, комбикорм для бройлеров, белковый концентрат и премикс). Результаты после устранение выбросов приведены в таблице Б.1. Повторяемость в пределах лаборатории, стандартное отклонение повторяемости приведены в таблицах Б.2 и Б.3. Результаты воспроизводимости, стандартное отклонение воспроизводимости приведены в таблицах Б.4 и Б.5.

Таблица Б.1 — Содержание аминокислот

В граммах на килограмм

Наименование пробы	Наименование аминокислоты			
	треонин	сумма цистина и цистеина	метионин	лизин
Корм для свиней	6,94 n = 15	3,01 n = 17	3,27 n = 17	9,55 n = 13
Комбикорм для бройлеров	9,31 n = 16	3,92 n = 18	5,08 n = 18	13,93 n = 16
Белковый концентрат	22,32 n = 16	5,06 n = 17	12,01 n = 17	47,74 n = 15
Премикс	58,42 n = 16	—	90,21 n = 16	98,03 n = 16
Примечание — n — число участвующих лабораторий.				

Таблица Б.2 — Стандартное отклонение повторяемости (s_r)

В граммах на килограмм

Наименование пробы	Наименование аминокислоты			
	треонин	сумма цистина и цистеина	метионин	лизин
Корм для свиней	0,13 n = 15	0,10 n = 17	0,11 n = 17	0,26 n = 13
Комбикорм для бройлеров	0,20 n = 16	0,11 n = 18	0,16 n = 18	0,28 n = 16
Белковый концентрат	0,48 n = 16	0,13 n = 17	0,27 n = 17	0,99 n = 15
Премикс	1,30 n = 16	—	2,19 n = 16	2,06 n = 16
Примечание — n — число участвующих лабораторий				

Таблица Б.3 — Коэффициент вариации повторяемости

В процентах

Наименование пробы	Наименование аминокислоты			
	треонин	сумма цистина и цистеина	метионин	лизин
Корм для свиней	1,9 n = 15	3,3 n = 17	3,4 n = 17	2,8 n = 13

Окончание таблицы Б.3

Наименование пробы	Наименование аминокислоты			
	треонин	сумма цистина и цистеина	метионин	лизин
Комбикорм для бройлеров	2,1 n = 16	2,8 n = 18	3,1 n = 18	2,1 n = 16
Белковый концентрат	2,7 n = 16	2,6 n = 17	2,2 n = 17	2,4 n = 15
Премикс	2,2 n = 16	—	2,4 n = 16	2,1 n = 16
Примечание — n — число участвующих лабораторий.				

Таблица *Б.4* — Стандартное отклонение воспроизводимости (S_R)

В граммах на килограмм

Наименование пробы	Наименование аминокислоты			
	треонин	сумма цистина и цистеина	метионин	лизин
Корм для свиней	0,28 n = 15	0,30 n = 17	0,23 n = 17	0,30 n = 13
Комбикорм для бройлеров	0,48 n = 16	0,34 n = 18	0,55 n = 18	0,75 n = 16
Белковый концентрат	0,85 n = 16	0,62 n = 17	1,57 n = 17	1,24 n = 15
Премикс	2,49 n = 16	—	6,20 n = 16	6,62 n = 16
Примечание — n — число участвующих лабораторий.				

Таблица *Б.5* — Коэффициент вариации воспроизводимости

В процентах

Наименование пробы	Наименование аминокислоты			
	треонин	сумма цистина и цистеина	метионин	лизин
Корм для свиней	4,1 n = 15	9,9 n = 17	7,0 n = 17	3,2 n = 13
Комбикорм для бройлеров	5,2 n = 16	8,8 n = 18	10,9 n = 18	5,4 n = 16
Белковый концентрат	3,8 n = 16	12,3 n = 17	13,0 n = 17	3,0 n = 15
Премикс	4,3 n = 16	—	6,9 n = 16	6,7 n = 16
Примечание — n — число участвующих лабораторий.				

Б.2 Второй тест

Обезличенные пробы кормов: финишный корм для бройлеров, стартовый корм для бройлеров, кукуруза, рыбная мука и мука из птицы — были представлены в двадцать три лаборатории. Результаты приведены в таблицах *Б.6*—*Б.10*.

Таблица Б.6 — Результаты анализа аминокислот в муке из птицы

Наименование аминокислоты	Количество единичных определений	Содержание аминокислоты	s_r	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	S_R	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Аланин	42	4,26	0,087	2,04	0,210	4,93
Аргинин	46	4,35	0,144	3,31	0,420	9,66
Аспарагиновая кислота	44	4,92	0,132	2,68	0,376	7,64
Цистин и цистеин в сумме	42	0,81	0,037	4,57	0,143	17,65
Глутаминовая кислота	46	7,97	0,216	2,71	0,728	9,13
Глицин	38	6,90	0,085	1,23	0,286	4,14
Гистидин	38	1,31	0,036	2,75	0,242	18,47
Изолейцин	46	2,24	0,060	2,68	0,261	11,65
Лейцин	46	4,09	0,101	2,47	0,310	7,58
Лизин	46	3,63	0,112	3,09	0,360	9,92
Метионин	40	1,17	0,025	2,14	0,140	11,97
Фенилаланин	44	2,33	0,082	3,52	0,215	9,23
Пролин	34	4,53	0,102	2,25	0,283	6,25
Серин	44	2,76	0,116	4,20	0,347	12,57
Треонин	44	2,32	0,073	3,15	0,212	9,14
Валин	44	2,82	0,090	3,19	0,361	12,80

Таблица Б.7 — Результаты анализа аминокислот в финишном корме для бройлеров

Наименование аминокислоты	Количество единичных определений	Содержание аминокислоты	s_r	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	S_R	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Аланин	44	1,17	0,032	2,74	0,099	8,46
Аргинин	44	1,28	0,030	2,34	0,110	8,59
Аспарагиновая кислота	46	1,68	0,047	2,80	0,121	7,20
Цистин и цистеин в сумме	38	0,32	0,010	3,13	0,036	11,25
Глутаминовая кислота	44	3,25	0,052	1,60	0,226	6,95
Глицин	46	1,27	0,029	2,28	0,085	6,69
Гистидин	34	0,50	0,020	4,00	0,099	19,80
Изолейцин	42	0,76	0,024	3,15	0,052	6,84
Лейцин	46	1,66	0,044	2,65	0,105	6,33
Лизин	44	1,07	0,037	3,46	0,096	8,97
Метионин	38	0,53	0,006	1,13	0,040	7,55
Фенилаланин	44	0,87	0,038	4,37	0,127	14,60
Пролин	36	1,39	0,044	3,17	0,124	8,92

Окончание таблицы Б.7

Наименование аминокислоты	Количество единичных определений	Содержание аминокислоты	s_r	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	s_R	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Серин	44	0,94	0,044	4,68	0,127	13,51
Треонин	40	0,73	0,020	2,74	0,060	8,22
Валин	44	0,92	0,035	3,80	0,117	12,72

Таблица *Б.8* — Результаты анализа аминокислот в стартовом корме для бройлеров

Наименование аминокислоты	Количество единичных определений	Содержание аминокислоты	s_r	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	s_R	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Аланин	46	1,28	0,027	2,11	0,100	7,81
Аргинин	46	1,57	0,042	2,68	0,129	8,22
Аспарагиновая кислота	40	2,29	0,035	1,53	0,137	5,98
Цистин и цистеин в сумме	38	0,35	0,006	1,71	0,056	16,00
Глутаминовая кислота	46	4,04	0,072	1,78	0,339	8,39
Глицин	46	1,27	0,034	2,68	0,090	7,09
Гистидин	40	0,65	0,018	2,77	0,100	15,38
Изолейцин	46	0,95	0,019	2,00	0,098	10,32
Лейцин	46	1,97	0,033	1,68	0,124	6,29
Лизин	46	1,35	0,032	2,37	0,122	9,04
Метионин	42	0,62	0,013	2,10	0,063	10,16
Фенилаланин	42	1,12	0,025	2,23	0,101	9,02
Пролин	36	1,47	0,060	4,08	0,128	8,71
Серин	44	1,12	0,028	2,50	0,153	13,66
Треонин	44	1,12	0,024	2,73	0,087	9,89
Валин	40	1,11	0,019	1,71	0,098	8,83

Таблица *Б.9* — Результаты анализа аминокислот в кукурузе

Наименование аминокислоты	Количество единичных определений	Содержание аминокислоты	s_r	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	s_R	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Аланин	46	1,28	0,027	2,11	0,100	7,81
Аргинин	46	1,57	0,042	2,68	0,129	8,22
Аспарагиновая кислота	40	2,29	0,035	1,53	0,137	5,98
Цистин и цистеин в сумме	38	0,35	0,006	1,71	0,056	16,00
Глутаминовая кислота	46	4,04	0,072	1,78	0,339	8,39
Глицин	46	1,27	0,034	2,68	0,090	7,09
Гистидин	40	0,65	0,018	2,77	0,100	15,38

Окончание таблицы Б.9

Наименование аминокислоты	Количество единичных определений	Содержание аминокислоты	s_r	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	S_R	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Изолейцин	46	0,95	0,019	2,00	0,098	10,32
Лейцин	46	1,97	0,033	1,68	0,124	6,29
Лизин	46	1,35	0,032	2,37	0,122	9,04
Метионин	42	0,62	0,013	2,10	0,063	10,16
Фенилаланин	42	1,12	0,025	2,23	0,101	9,02
Пролин	36	1,47	0,060	4,08	0,128	8,71

Таблица Б.10 — Результаты анализа аминокислот в рыбной муке

Наименование аминокислоты	Количество единичных определений	Содержание аминокислоты	s_r	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	S_R	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Аланин	42	3,50	0,073	2,09	0,223	6,37
Аргинин	46	3,40	0,117	3,00	0,280	7,18
Аспарагиновая кислота	46	5,22	0,108	2,07	0,327	6,26
Цистин и цистеин в сумме	38	0,48	0,019	3,96	0,091	18,96
Глутаминовая кислота	46	7,37	0,063	0,85	0,347	4,71
Глицин	46	3,84	0,059	1,54	0,215	5,60
Гистидин	38	1,37	0,033	2,41	0,176	12,85
Изолейцин	46	2,32	0,049	2,11	0,238	10,26
Лейцин	46	4,07	0,079	1,94	0,276	6,78
Лизин	44	4,22	0,117	2,77	0,335	7,94
Метионин	42	1,61	0,030	1,86	0,156	9,69
Фенилаланин	40	2,29	0,037	1,62	0,176	7,69
Пролин	36	2,62	0,079	3,02	0,326	12,44
Серин	42	2,21	0,048	2,17	0,248	11,22
Треонин	44	2,28	0,081	3,55	0,244	10,70
Валин	44	2,78	0,063	2,27	0,311	11,19

Приложение ДА
(справочное)

Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта

Таблица *ДА.1*

Структура международного стандарта		Структура межгосударственного стандарта	
подраздел	пункт	подраздел	пункт
Раздел 1		*Раздел 1*	
—		*Раздел 2*	
Раздел 2		*Раздел 3*	
2.1	—	*3.1*	—
2.2	—	*3.2*	—
Раздел 3		*Разделы 5, 6*	
3.1	—	*5.1*	—
3.2	—	*5.2*	—
3.3		*5.3*	
3.4	—	*5.4*	—
3.5	—	*5.5*	—
3.6	—	*5.6*	—
3.7	—	*5.7*	—
3.8	—	*5.8*	—
3.9	*3.9.1*	*5.9*	*5.9.1*
—	*3.9.2*	—	*5.9.2*
—	*3.9.3*	—	*5.9.3*
—	—	*5.10*	—
—	—	*5.11*	—
—	—	*5.12*	—
—	—	*5.13*	—
—	—	*5.14*	—
—	—	*5.15*	—
—	—	*5.16*	—
—	—	*5.17*	—
3.10	—	*6.1*	—
3.11	—	*6.2*	—
3.12	—	*6.3*	—
3.13	—	*6.4*	—
3.14	—	*6.5*	—

Продолжение таблицы ДА.1

Структура международного стандарта		Структура межгосударственного стандарта	
подраздел	пункт	подраздел	пункт
3.15	—	6.6	—
3.16	—	6.7	—
3.17	—	6.8	—
3.18	—	6.9	—
3.19	—	6.10	—
3.20	3.20.1	6.11	6.11.1
—	3.20.2	—	6.11.2
—	3.20.3	—	6.11.3
—	3.20.4	—	6.11.4
—	3.20.5	—	6.11.5
Раздел 4		Раздел 4	
4.1	—	4.1	—
4.2	—	4.2	—
4.3	—	4.3	—
4.4	—	4.4	—
4.5		4.5	
4.6	—	4.6	—
4.7	—	4.7	—
4.8	—	4.8	—
4.9	—	4.9	—
—	—	4.10	—
—	—	4.11	—
—	—	4.12	—
		4.13	
—	—	4.14	—
—	—	4.15	—
—	—	4.16	—
—	—	4.17	—
—	—	4.18	—
—	—	4.19	—
—	—	4.20	—
—		Раздел 7	
Раздел 5		Разделы 8, 9	
5.1	—	Раздел 8	

Окончание таблицы ДА.1

Структура международного стандарта		Структура межгосударственного стандарта	
подраздел	пункт	подраздел	пункт
5.2	—	*9.1*	—
5.3	—	*9.2*	—
5.4	—	*9.3*	—
Раздел 6		*Раздел 10*	
Раздел 7		*Раздел 11*	
Раздел 8		*Раздел 12*	
Раздел 9		*Раздел 13*	
Приложение	*А*	*Приложение*	*Б*
	В		*А*
	—		*ДА*
Библиография		—	

Примечания

1 В соответствии с ГОСТ 1.5—2001 в настоящий стандарт добавлен раздел 2 «Нормативные ссылки».

2 Раздел 3 международного стандарта «Реактивы и материалы» представлен в настоящем стандарте разделом 5 «Реактивы» и разделом 6 «Приготовление растворов».

3 В раздел 5 настоящего стандарта введены подразделы с неуказанными в международном стандарте реактивами.

4 Раздел 4 настоящего стандарта дополнен подразделами с указанием используемого оборудования.

5 В соответствии с ГОСТ 1.5—2001 в настоящий стандарт добавлен раздел 7 «Отбор проб».

6 В соответствии с ГОСТ 1.5—2001 подраздел 5.1 международного стандарта «Подготовка образцов» в настоящем стандарте представлен разделом 8 «Подготовка проб».

7 В соответствии с ГОСТ 1.5—2001 изменена нумерация приложений.

8 В соответствии с ГОСТ 1.5—2001 и ГОСТ 1.3—2008 настоящий стандарт дополнен приложением ДА (справочное) «Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта».

9 В настоящем стандарте исключен структурный элемент «Библиография», т. к. по тексту международного стандарта отсутствуют ссылки на приведенные источники.

УДК 636.085.3:006.354 МКС 65.120

Ключевые слова: корма, комбикорма, премиксы, метод ВЭЖХ, цистин и цистеин в сумме, метионин, лизин, треонин, аланин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, пролин, серин, тирозин, валин, экстракция, окисление, гидролиз, нингидрин, ионообменная хроматография

Редактор переиздания *Д.А. Кожемяк*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.М. Поляченко*
Компьютерная верстка *Д.В. Кардановской*

Сдано в набор 08.06.2020. Подписано в печать 22.07.2020. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,60.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов.
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru stinfo.ru

gost.e-ecolog.ru