МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА РАСТИТЕЛЬНЫЕ

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕРЕВАРИМОСТИ IN VITRO

Издание официальное

БЗ 9—99

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 636.085.3:006.354 Группа С19

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА РАСТИТЕЛЬНЫЕ

Метод определения переваримости in vitro

ГОСТ 24230—80

Vegetable feeds. Method for determination of digestibility in vitro

МКС 65.120
ОКП 92 8000

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 6 июня 1980 г. № 2627 дата введения установлена

01.07.81

Ограничение срока действия снято Постановлением Госстандарта СССР от 06.06.91 № 816

Настоящий стандарт распространяется на растительные корма и устанавливает метод определения переваримости сухого вещества кормов in vitro. Метод применяют в агротехнических и селекционных опытах.

Сущность метода заключается в определении степени переваримости (растворения) сухого вещества с помощью ферментов пепсина и целловиридина.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1. МЕТОД ОТБОРА ПРОБ

1.1. Отбор проб зеленого корма

1.1.1. На участке травостоя выделяют 8—10 учетных площадок размером 1—2 м^2. Травостой скашивают на высоте 3—5 см. Полученную со всех учетных площадок зеленую массу послойно расстилают на брезенте или полимерной пленке и тщательно перемешивают, получая таким образом объединенную пробу. Для составления средней пробы, масса которой должна быть 1,5—2,0 кг, траву берут порциями по 150—200 г из 10 различных мест. Пробу помещают в пакет из полимерной пленки, куда вкладывают этикетку с указанием адреса и наименования хозяйства, отделения, бригады, номера поля, участка, вида травостоя, фазы вегетации и года урожая. Отобранную пробу сразу же направляют в лабораторию для подготовки к анализу.

1.1.2. От зеленой массы, доставленной на фермы для непосредственного скармливания животным или для приготовления силоса, сенажа, искусственно-обезвоженных кормов, точечные пробы берут вручную или пробоотборником не менее чем из 10 мест порциями по 400—500 г; зеленый корм послойно расстилают на брезенте или полимерной пленке и тщательно перемешивают, получая таким образом объединенную пробу. Среднюю пробу составляют, как указано в п. 1.1.1.

1.2. Отбор проб сена — по ГОСТ 4808—87.

1.3. Отбор проб силоса — по ГОСТ 23638—90.

1.4. Отбор проб сенажа — по ГОСТ 23637—90.

1.5. Отбор проб брикетов, гранул и муки из трав — по ГОСТ 13496.0—80.

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ

2.1. Для проведения испытания применяют:

мельницу лабораторную марки МГК-2 или других марок, обеспечивающих равномерное, измельчение корма на частицы размером около 1 мм;

весы лабораторные аналитические;

весы технические 2—3-го класса точности;

термостат биологический с температурой нагрева 38—40 °С;

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

Издание (сентябрь 2003 г.) с Изменением № 1, утвержденным в июне 1986 г. (ИУС 9—86).

© Издательство стандартов, 1980
© ИПК Издательство стандартов, 2003

насос водоструйный лабораторный;
шкаф сушильный лабораторный;
центрифугу лабораторную с частотой вращения 2500 мин$^{-1}$;
пипетку автоматическую вместимостью 50 см^3;
пробирки центрифужные вместимостью 100 см^3;
эксикатор по ГОСТ 25336—82 или аналогичных марок;
штативы для пробирок;
пепсин медицинский;
фермент целлюлазу (целловиридин) марки ГЗх, активностью не менее 75 ед/г;
кислоту соляную по ГОСТ 3118—77, х.ч.;
кислоту лимонную, ос.ч.;
натрий кислый ортофосфорнокислый двузамещенный 12-водный, ос.ч.;
воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.
(Измененная редакция, Изм. № 1).

3. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

3.1. Приготовление реактивов

3.1.1. Раствор пепсина, 0,2 %-ный: 2 г пепсина растворяют в 1 дм^3 0,1 М соляной кислоты.
(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.1.2. Раствор лимонной кислоты 0,1 М: 21,008 г лимонной кислоты растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды.

3.1.3. Раствор кислого ортофосфорнокислого натрия 0,2 М: 35,52 г натрия кислого ортофосфорнокислого растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды.

3.1.4. Раствор цитрат-фосфатный буферный с pH 4,6: 10,65 см^3 0,1 М раствора лимонной кислоты смешивают с 9,35 см^3 0,2 М раствора натрия кислого ортофосфорнокислого.

3.1.5. Раствор целлюлазы: 5 г целловиридина растворяют в 1 дм^3 цитрат-фосфатного буфера.

3.1.6. *Определение активности целлюлазы*

Для определения активности целлюлазы готовят стандартный раствор: 5 г целловиридина растворяют в 100 см^3 цитрат-фосфатного буфера, получая таким образом в 1 см^3 раствора 50 мг фермента. В 10 предварительно высушенных до постоянной массы пробирок помещают по 200 мг корма известной переваримости, значение которой определено в опытах in vivo (на животных), приливают в каждую из них соответствующее количество стандартного раствора и цитрат-фосфатного буфера, как указано в таблице.

Номер пробирки	Количество стандартного раствора, см^3	Количество цитрат-фосфатного буфера, см^3	Содержание (активность), фермента, мг	Переваримость корма, %
1	1	19	50	
2	2	18	100	
3	3	17	150	
4	4	16	200	
5	5	15	250	
6	6	14	300	
7	7	13	350	
8	8	12	400	
9	9	11	450	
10	10	10	500	

Пробирки закрывают пробками, ставят в биологический термостат и выдерживают там в течение 24 ч при температуре 38—40 °С. После этого надосадочную жидкость отсасывают водоструйным насосом, а пробирки с остатками непереваренного корма высушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105 °С до постоянной массы. Переваримость (растворимость) сухого вещества корма в каждой пробирке определяют по формуле, приведенной в п. 5.1. На основании полученных данных о переваримости корма строят калибровочную кривую. Оптимальной считается та доза фермента, увеличение которой не приводит к дальнейшему (более 5 %) повышению переваримости (растворимости) сухого вещества корма.

3.1.5, 3.1.6. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3.2. Подготовка пробы для анализа

3.2.1. Сразу после поступления в лабораторию, но не более 4 ч после отбора пробы фиксируют в сушильном шкафу при температуре 80—90 °С в течение 30 мин для прекращения ферментативных процессов в свежескошенных растениях.

3.2.2. 50—100 г корма высушивают в сушильном шкафу при температуре 65 °С до воздушно-сухого состояния и измельчают на лабораторной мельнице до размера частиц 1 мм.

3.2.3. Массовую долю гигроскопической влаги определяют по ГОСТ 23637—90.

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

4.1. Навески измельченного воздушно-сухого корма массой около 500 мг, взвешенные с погрешностью не более 0,001 г, помещают в пробирки, предварительно высушенные до постоянной массы, заливают 50 см^3 0,1 н. раствора солянокислого пепсина, закрывают пробками и выдерживают в биологическом термостате 24 ч при 38—40 °С. После этого надосадочную жидкость удаляют водоструйным насосом и фильтровальной трубкой, промывают дистиллированной водой, центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 2500 мин$^{-1}$ и снова удаляют надосадочную жидкость.

Остаток в пробирках заливают 50 см^3 раствора целлюлазы и снова помещают в биологический термостат на 48 ч при 38—40 °С. Периодически (3—4 раза в день) содержимое пробирок встряхивают так, чтобы частицы корма не оставались на стенках пробирок. По окончании второго этапа переваривания надосадочную жидкость удаляют, промывают непереваренный остаток дистиллированной водой, центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 2500 мин$^{-1}$ и снова отсасывают надосадочную жидкость водоструйным насосом с фильтровальной трубкой. Пробирки с непереваренными остатками помещают в сушильный шкаф, высушивают при 100—105 °С до постоянной массы и после охлаждения в эксикаторе взвешивают с погрешностью не более 0,001 г.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.2. В каждый опыт, кроме испытуемых образцов, включают не менее двух контрольных образцов корма (злакового, бобово-злакового и так далее, в зависимости от изучаемого вида растений) с известной (высокой, низкой, промежуточной) переваримостью сухого вещества, определенной методом in vivo.

Данные, полученные in vivo, позволяют рассчитать коэффициенты поправки или уравнение регрессии для перевода данных in vitro в in vivo и сравнивать результаты, полученные в разное время и в разных лабораториях.

(Введен дополнительно, Изм. № 1).

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Переваримость сухого вещества корма in vitro ($П_{св}$) в процентах вычисляют по формуле

$$П_{св} = \frac{\left[m\left(\frac{100 - m_2}{100}\right) - m_1 \right] \cdot 100}{m\left(\frac{100 - m_2}{100}\right)},$$

где m — масса навески корма, мг;

m_1 — масса высушенного непереваренного остатка корма, мг;

m_2 — массовая доля гигроскопической влаги в корме, %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений не должны превышать 3 %.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

Редактор *Л.И. Нахимова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Изд. лиц. № 02354 от 14.07.2000. Подписано в печать 13.10.2003. Усл. печ. л. 0,47. Уч.-изд. л. 0,40. Тираж 132 экз. С 12366. Зак. 899.

ИПК Издательство стандартов, 107076 Москва, Колодезный пер., 14.
e-mail: info@standards.ru
Набрано в Издательстве на ПЭВМ
Филиал ИПК Издательство стандартов — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.
Плр № 080102

gost.e-ecolog.ru