ГОСТ 13496.17—95

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА

Методы определения каротина

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН МТК 4, Центральным институтом научного агрохимического обслуживания сельского хозяйства, Всероссийским научно-исследовательским институтом кормов, Всероссийским научно-исследовательским институтом комбикормовой промышленности

ВНЕСЕН Госстандартом России

2 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 8 от 12 октября 1995 г.)

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Республика Казахстан	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизская Республика	Киргизстандарт
Республика Молдова	Молдовастандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Республика Таджикистан	Таджикгосстандарт
Туркменистан	Главная государственная инспекция Туркменистана
Украина	Госстандарт Украины

3 Постановлением Комитета Российской Федерации по стандартизации, метрологии и сертификации от 29 февраля 1996 г. № 139 межгосударственный стандарт ГОСТ 13496.17—95 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 января 1997 г.

4 ВЗАМЕН ГОСТ 13496.17—84

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Март 2011 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1995
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2011

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Фотометрический метод определения каротина 1
1.1 Отбор проб 1
1.2 Аппаратура, материалы и реактивы 1
1.3 Требования безопасности 1
1.4 Подготовка к испытанию 2
1.5 Подготовка проб 2
1.6 Проведение испытания 2
1.7 Обработка результатов 3
2 Метод определения каротина с использованием пробирочной шкалы 4
2.1 Отбор проб 4
2.2 Аппаратура, материалы и реактивы 4
2.3 Требования безопасности 4
2.4 Подготовка к испытанию 4
2.5 Подготовка проб 4
2.6 Приготовление пробирочной шкалы 4
2.7 Проведение испытания 4
2.8 Обработка результатов 5

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА

Методы определения каротина

Forage.
Methods for determining carotin

Дата введения 1997—01—01

Настоящий стандарт распространяется на корма растительного происхождения: сено, силос, сенаж, искусственно высушенные травяные корма, муку из древесной зелени, зеленую массу травянистых культур и устанавливает методы определения каротина.

1. Фотометрический метод определения каротина

Сущность метода состоит в растворении каротина в петролейном эфире или бензине и фотометрическом измерении окраски, интенсивность которой зависит от содержания каротина.

1.1. Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 13979.0, ГОСТ 27262.

1.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Измельчитель проб растений ИПР-2 или других аналогичных марок.

Мельница лабораторная марки МРП-2 или других аналогичных марок.

Фотоэлектроколориметр с синим светофильтром и максимумом светопропускания 440—450 нм или спектрофотоколориметр.

Весы лабораторные 2-го класса точности с пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104*.

Весы лабораторные 3 и 4-го классов точности с пределом взвешивания 500 г по ГОСТ 24104.

Термостат воздушный или водяной, обеспечивающий поддержание температуры (35±3) °С.

Ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 9147.

Колбы мерные 1(2)—2—100(1000) по ГОСТ 1770.

Бюретки 1(2,3,5)—2—50 по ГОСТ 29251.

Цилиндр мерный 1(2,3,4)—2—100 по ГОСТ 1770.

Карандаш восковой для стекла.

Банки бытовые вместимостью 200 $см^3$ по ГОСТ 5717.1—ГОСТ 5717.2 или

Колбы вместимостью 150—200 $см^3$ по ГОСТ 23932.

Крышки полиэтиленовые для банок или пробки для колб.

Кальция окись безводная по ГОСТ 8677, ч., ч.д.а.

Алюминия окись безводная.

Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, ч., ч.д.а.

Натрий двууглекислый по ГОСТ 4201, х.ч., ч.д.а.

Калий двухромовокислый по ГОСТ 4220, х.ч., ч.д.а.

Эфир петролейный, фракция температурой кипения 40—70 или 70—100 °С, бензин авиационный марки Б-70, или нефрас- С 50/170 по ГОСТ 8505.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение импортной лабораторной посуды по классу точности и реактивов по качеству не ниже отечественных.

1.3. Требования безопасности

Все работы с петролейным эфиром и бензином проводят в вытяжном шкафу. При хранении эфира или бензина и проведении анализов необходимо соблюдать требования техники безопасности работы с легковоспламеняющимися и взрывоопасными веществами.

* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008 (здесь и далее).

Издание официальное

1.4. Подготовка к испытанию

1.4.1. *Приготовление окиси алюминия 10 %-ной влажности*

К 900 г безводной окиси алюминия добавляют 100 см³ дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Реактив хранят в герметически закрытом сосуде с притертой пробкой и используют для анализа на следующий день.

1.4.2. *Приготовление окиси кальция безводной*

Готовят путем растирания окиси кальция в фарфоровой ступке до порошкообразного состояния. Реактив хранят в герметически закрытой банке.

1.4.3. *Калибровка бытовых банок*

Во все банки вносят 5 г чистого кварцевого песка или измельченного стекла (при использовании гомогенизатора их добавлять не нужно), 15 г сернокислого натрия, 10 г окиси алюминия, 0,5 г окиси кальция и 100 см³ бензина и наносят метку.

1.4.4. *Приготовление основного (стандартного) раствора двухромовокислого калия*

0,720 г двухромовокислого калия, взвешенного с погрешностью не более 0,001 г, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1000 см³ и затем объем раствора доводят до метки и тщательно перемешивают. Оптическая плотность полученного раствора равна оптической плотности раствора каротина концентрации 0,00416 мг/см³. Раствор хранят в течение одного года после его приготовления.

1.4.5. *Приготовление растворов сравнения*

В мерные колбы вместимостью 100 см³ из бюретки приливают каждый раз от нуля 10, 20, 30, 40, 50 см³ основного раствора двухромовокислого калия и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают. Срок хранения растворов сравнения — не более 3 мес.

Фотометрирование растворов сравнения проводят в кювете с толщиной просвечиваемого слоя 5, 10 или 20 мм при длине волны 450 нм. Оптическую плотность растворов бихромата калия измеряют относительно дистиллированной воды.

Для построения градуировочного графика на миллиметровой бумаге по горизонтальной оси наносят значения объемов основного раствора бихромата калия, взятых для приготовления растворов сравнения, на вертикальной оси — соответствующую оптическую плотность растворов. Градуировочный график строят для каждой кюветы.

Проверку градуировочного графика выполняют в день проведения испытаний по второму и пятому растворам сравнения. При нестабильной работе прибора фотометрируют все растворы сравнения и строят график.

1.5. Подготовка проб

1.5.1. Пробу зеленой массы травянистых культур, силоса, сенажа измельчают на ИПР-2 или ножницами до отрезков длиной 1—3 см. Измельченную пробу корма тщательно перемешивают на полиэтиленовой пленке и методом квартования выделяют часть пробы массой 100—200 г, которую размалывают на мельнице в течение 2—4 мин.

Кормовые корнеплоды измельчают на мезгообразователе или растирают на терке.

1.5.2. Пробу сена (измельчена на ИПР-2 или ножницами до отрезков длиной 1—3 см), травяной муки или витаминной муки из древесной зелени, гранул или брикетов тщательно перемешивают на полиэтиленовой пленке и методом квартования выделяют часть пробы массой 100—200 г, которую размалывают на мельнице. Травяную муку размером частиц 1—2 мм анализируют без предварительного размола.

1.6. Проведение испытания

1.6.1. Из подготовленной по п. 1.5.1 пробы травянистых культур, силоса, сенажа, после тщательного ее перемешивания, из разных мест берут навеску корма массой 1—5 г с погрешностью не более 0,05 г. Размер навески определяют в зависимости от ожидаемого содержания каротина. Навеску зеленой массы, силоса или сенажа переносят в фарфоровую ступку, добавляют 5 г песка или мелко измельченного стекла, 15 г сернокислого натрия (при навеске 4—5 г добавляют 20—25 г). В навеску силоса и сенажа, кроме того, добавляют на кончике ножа двууглекислый натрий. Смесь тщательно растирают не менее 3—4 мин. Хорошо растертый и обезвоженный корм без потерь переносят в бытовую банку или колбу вместимостью 200 см³, приливают 100 см³ петролейного эфира или бензина, обмыв ступку и пестик его минимальным количеством. Добавляют в банку 10 г окиси алюминия 10 %-ной влажности и 0,5 г растертой до порошкообразного состояния окиси кальция, перемешивают стеклянной палочкой, плотно закрывают банку полиэтиленовой крышкой, а колбу пробкой.

1.6.2. Из подготовленной по п. 1.5.2 и хорошо перемешанной пробы сена, травяной или витаминной муки, брикетов или гранул из разных мест берут навеску массой около 1—3 г, для сена до 5 г и переносят в бытовую банку или колбу вместимостью 200 см³. Добавляют 5 г безводного сернокислого натрия, тщательно перемешивают стеклянной палочкой, вносят 10 г окиси алюминия 10 %-ной влажности, 0,5 г окиси кальция и 100 см³ петролейного эфира или бензина и снова перемешивают.

1.6.3. Измельчение анализируемой пробы можно проводить и на гомогенизаторе. В этом случае после измельчения пробы сена, силоса, сенажа или зеленой массы травянистых культур на ИПР-2 или ножницами ее тщательно перемешивают и из разных мест берут навеску массой 1—5 г, переносят в стакан гомогенизатора, на дно которого насыпано 15 г сернокислого натрия (в навеску силоса и сенажа добавляют двууглекислый натрий), приливают 50—60 см³ экстрагента и гомогенизируют 2 мин с частотой вращения 5000 мин$^{-1}$. Затем навеску переносят в бытовую банку (колбу), тщательно обмывая стакан гомогенизатора минимальным количеством экстрагента. Добавляют в банки 10 г окиси алюминия 10 %-ной влажности и 0,5 г окиси кальция, доводят экстрагентом до метки и перемешивают.

1.6.4. Плотно закрытые банки или колбы оставляют в темном месте на 14—18 ч. При проведении экспресс-испытания единичных образцов допускается заменять настаивание термостатированием. Для этого плотно закрытые банки или колбы помещают на 2 ч в предварительно нагретый до 35 °С термостат. Затем пробы охлаждают до комнатной температуры. В целях безопасности работы следует следить за строгим соблюдением температуры во время термостатирования. Перед работой необходимо убедиться в исправности термостата и правильности показаний термометра.

После настаивания или термостатирования, не взмучивая, отбирают шприцом прозрачный отстоявшийся раствор и переносят в кювету фотоэлектроколориметра. Фотометрирование экстрактов каротина проводят относительно петролейного эфира или бензина, используя кювету на 5, 10, 20 мм.

При оптической плотности раствора более 0,7 в мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят 25 см³ анализируемой вытяжки, доводят до метки петролейным эфиром (или бензином) и перемешивают. При этом полученные результаты определения каротина удваивают.

1.7. Обработка результатов

1.7.1. Содержание каротина (X), мг/кг, в корме натуральной влажности вычисляют по формуле

$$X = \frac{V \cdot 0{,}00416 \cdot 1000}{m},$$

где V — объем основного раствора, найденный по графику, см³;

m — масса навески, г;

0,00416 — коэффициент перевода основного раствора двухромовокислого калия в эквивалентное количество миллиграммов каротина;

1000 — коэффициент пересчета на 1 кг корма.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений.

Результаты вычисляют до первого десятичного знака и округляют до целого числа.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений ($d_{абс.}$) и между двумя результатами, полученными в разных условиях ($D_{абс.}$), при доверительной вероятности $P = 0{,}87$ не должны превышать следующих значений:

$$d_{абс.} = 0{,}07\ \overline{X} + 0{,}86;$$

$$D_{абс.} = 0{,}25\ \overline{\overline{X}} + 5{,}35,$$

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое результатов двух параллельных определений, мг/кг;

$\overline{\overline{X}}$ — среднеарифметическое результатов двух определений, выполненных в разных условиях, мг/кг.

Предельную погрешность результата анализа ($\Delta_{\Sigma_{абс}}$) при односторонней доверительной вероятности $P = 0{,}87$ вычисляют по формуле

$$\Delta_{\Sigma_{абс}} = 0{,}13\overline{\overline{X}} + 2{,}87.$$

1.7.2. Содержание каротина в сухом веществе (X_1), мг/кг, вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{X \cdot 100}{100 - W},$$

где X — содержание каротина в 1 кг корма натуральной влажности, мг;
W — влажность корма, %.

2. Метод определения каротина с использованием пробирочной шкалы

Сущность метода заключается в сравнении интенсивности окраски испытуемого раствора со шкалой стандартных растворов двухромовокислого калия.

2.1. Отбор проб — по п. 1.1.

2.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 1.2, а также указанные ниже.

Пробирки стеклянные одинакового диаметра и цвета, вместимостью 20—40 см^3.

Штатив для пробирок.

Пробки для пробирок.

2.3. Требования безопасности — по п. 1.3.

2.4. Подготовка к испытанию — по п. 1.4.

2.5. Подготовка проб — по п. 1.5.

2.6. Приготовление пробирочной шкалы

Для приготовления пробирочной шкалы в 14 мерных колб вместимостью 100 см^3 вносят основной раствор двухромовокислого калия в количестве, указанном в таблице 1. При этом используют бюретку вместимостью 50 см^3. Растворы в колбах доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и разливают в пронумерованные пробирки, которые плотно закрывают пробками. Номер пробирки должен соответствовать номеру колбы. Пробирочную шкалу хранят в темном месте в течение года. Для шкалы подбирают пробирки одинакового диаметра и цвета.

Таблица 1

Номер пробирки	Основной раствор бихромата калия, см^3	Масса навески анализируемой пробы, г				
		1	2	3	4	5
		Содержание каротина, мг/кг				
1	1,2	5	2,5	1,7	1,3	1
2	3,6	15	7,5	5	3,8	3
3	6,0	25	12,5	8	6,3	5
4	9,6	40	20	13	10	8
5	14,4	60	30	20	15	12
6	19,2	80	40	27	20	16
7	24,0	100	50	33	25	20
8	28,8	120	60	40	30	24
9	33,6	140	70	47	35	28
10	36,0	150	75	50	37,5	30
11	40,9	170	85	57	42,5	34
12	42,2	180	90	60	45	36
13	48,1	200	100	67	50	40
14	55,3	230	115	77	57,5	46

2.7. Проведение испытания — по п. 1.6

Прозрачный раствор, полученный после двухчасового выдерживания в термостате или настаивания в течение 14—18 ч, не взмучивая, переносят в пробирку и сравнивают со шкалой на фоне бе-

лой бумаги. Из шкалы выбирают пробирку, наиболее соответствующую по цвету испытуемому раствору.

2.8. Обработка результатов

Содержание каротина находят по таблице 1. Если испытуемый раствор по окраске интенсивнее раствора пробирки № 14, его разбавляют 1:1 бензином (или петролейным эфиром, или нефрасом) и снова сравнивают с пробирочной шкалой. При этом полученный результат удваивают.

Если для анализа испытуемой пробы взята навеска 1,5 или 2,5 г, то результат, найденный для навески 1 г, делят соответственно на 1,5 или на 2,5.

Содержание каротина в сухом веществе вычисляют по п. 1.7.2.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 1770—74	1.2	ГОСТ 9147—80	1.2
ГОСТ 4166—76	1.2	ГОСТ 13496.0—80	1.1
ГОСТ 4201—79	1.2	ГОСТ 13586.3—83	1.1
ГОСТ 4220—75	1.2	ГОСТ 13979.0—86	1.1
ГОСТ 5717.1—2003	1.2	ГОСТ 23932—90	1.2
ГОСТ 5717.2—2003	1.2	ГОСТ 24104—88	1.2
ГОСТ 6709—72	1.2	ГОСТ 27262—87	1.1
ГОСТ 8505—80	1.2	ГОСТ 29251—91	1.2
ГОСТ 8677—76	1.2		

УДК 636.085:547.979.8.86:006.354 МКС 65.120 С 19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: корма, отбор проб, аппаратура, материалы, реактивы, безопасность, подготовка к испытанию, подготовка проб, проведение испытаний, обработка результатов

gost.e-ecolog.ru