ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Метод определения содержания сырого протеина, сырой клетчатки, сырого жира и влаги с применением спектроскопии в ближней инфракрасной области

Издание официальное

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом кормов им. В.Р. Вильямса, Всероссийским научно-исследовательским институтом комбикормовой промышленности

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК4 "Комбикорма, БВД, премиксы", Главным управлением химизации с Госхимкомиссией Минсельхозпрода России

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 26 сентября 1995 г. № 486

3 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

4 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Метод определения содержания сырого протеина, сырой клетчатки, сырого жира и влаги с применением спектроскопии в ближней инфракрасной области

Fodder, mixed fodder and animal feed raw stuff.
Spectroscopy in near infra-red region method
for determination of crude protein, crude fibre, crude fat and moisture

Дата введения 1997—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на все виды растительных кормов, комбикорма и комбикормовое сырье, за исключением кормов минерального происхождения, жмыхов и шротов и устанавливает метод определения содержания сырого протеина, сырой клетчатки, сырого жира и влаги с применением спектроскопии в ближней инфракрасной области.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 4808—87 Сено. Технические условия

ГОСТ 7631—85 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний

ГОСТ 13496.0—80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 13496.2—91 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения сырой клетчатки

ГОСТ 13496.3—92 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения влаги

ГОСТ 13496.4—93 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина

ГОСТ 13496.15—85 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения сырого жира

ГОСТ 13586.3—83 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 17681—82 Мука животного происхождения. Методы испытаний

ГОСТ 21769—84 Зелень древесная. Технические условия

ГОСТ 23637—90 Сенаж. Технические условия

ГОСТ 23638—90 Силос из зеленых растений. Технические условия

ГОСТ 27262—87 Корма растительного происхождения. Методы отбора проб

ГОСТ 27548—87 Корма растительные. Методы определения влаги

ГОСТ 27668—88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб

Издание официальное

3 Сущность метода

3.1 Сущность метода заключается в высушивании пробы до воздушно-сухого состояния, измельчении ее до установленного размера частиц, измерении интенсивности диффузного отражения излучения в ближней инфракрасной области спектра от измельченной пробы с помощью измерительной системы, математической обработке спектральных данных и вычислении результатов анализов по градуировочному уравнению, полученному по данным измерений образцов с известными значениями определяемых компонентов, установленными с использованием стандартных химических методов.

4 Отбор проб

4.1 Отбор проб — по ГОСТ 7631, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 17681, ГОСТ 21769, ГОСТ 27262, ГОСТ 27668.

5 Аппаратура, материалы

5.1 Спектрофотометр для измерения интенсивности отражения излучения в ближней инфракрасной области.

Счетное устройство для обработки спектральной информации (микро-ЭВМ, ПЭВМ и т.д.), снабженное соответствующим программным обеспечением.

Измельчитель проб растения марки ИПР-2 или соломорезка марки ИСР-1 или аналогичных марок.

Мельница лабораторная типов "Циклон" QC-114, QC-124; электрические мельницы типов МРП-2, ЭМ-3А, бытовые электрокофемолки.

Сита с отверстиями диаметром 1,0 мм.

Сушилка проб кормов СК-1 или шкаф сушильный лабораторный с погрешностью поддержания температуры не более 5 °С или сушилка и шкаф с аналогичными техническими характеристиками.

Банки стеклянные или пластмассовые с притертой или завинчивающейся крышкой вместимостью 100—200 $см^3$.

6 Подготовка к испытанию

6.1 Подготовка проб

Среднюю пробу сена, силоса, зеленых кормов измельчают на отрезки длиной 1 — 3 см. Методом квартования выделяют часть средней пробы, масса которой после высушивания должна быть не менее 50 г. Высушивание проб проводят в сушильном шкафу при температуре 60—65 °С до воздушно-сухого состояния.

Допускаются другие способы сушки (после предварительной фиксации пробы в сушильном шкафу, с использованием влагомера зеленой массы или микроволновой печи, лиофилизация и т.д.) при условии обязательного включения в градуировочную партию проб, высушенных этими способами.

После высушивания воздушно-сухую пробу размалывают на мельнице. Пробы комбикормов и сырья размалывают без предварительного подсушивания. Образцы всех видов кормов измельчают до прохода частиц через сито диаметром отверстий 1 мм.

В зависимости от имеющегося оборудования и вида корма используют следующие варианты измельчения:

- сначала размалывают на мельнице марки МРП-2 или других аналогичных марок, не снабженных ситами, и затем просеивают через сито с соответствующим диаметром отверстий. Трудноизмельчимый остаток на сите после ручного измельчения ножницами или в ступке добавляют к просеянной части и тщательно перемешивают;

- сначала измельчают на мельнице марки МРП-2 или других аналогичных марок, не снабженных ситами, в течение 30 с, а затем размалывают на мельницах, снабженных ситами, как например, марки QC-114;

- сразу размалывают на мельницах, снабженных ситами с требующимся диаметром отверстий.

Размолотую пробу переносят в стеклянную или пластмассовую банку или в пакет из полиэтиленовой пленки и используют для снятия спектра после достижения ею температуры окружающей среды, которая должна варьировать не более чем на 5 °С. При необходимости пробу хранят в указанных контейнерах в плотно закрытом виде в сухом темном месте. Образцы мясокостной и рыбной муки, а также комбикормов, содержащих эти виды сырья, хранят в бытовом холодильнике.

Не допускается использование для анализов образцов с затхлым, плесневелым, гнилостным и горелым запахом, а также проб, содержащих золу, не растворимую в соляной кислоте, в количествах, превышающих нормы, указанные в ГОСТ 4808, ГОСТ 23637 и ГОСТ 23638.

6.2 Градуировка приборов

6.2.1 Градуировка прибора заключается в снятии спектров набора образцов, называемого градуировочной партией образцов; анализе этих образцов стандартными химическими методами; получении уравнения, связывающего содержание определяемого компонента со спектральными данными, пользуясь методами математической статистики.

6.2.2 Градуировочные образцы подбирают так, чтобы они были представительны по отношению к образцам, которые затем будут анализироваться с использованием полученного градуировочного уравнения.

Образцы градуировочной партии должны полностью охватывать весь диапазон возможных значений определяемых компонентов и равномерно по нему распределены, а также весь диапазон содержания влаги в анализируемом материале, учитывая возможность переувлажнения проб, а также их анализ при уровнях содержания влаги ниже, чем в воздушно-сухом состоянии.

При анализе растительных кормов образцы градуировочной партии должны отражать варьирование физико-химических свойств материала, обусловленное различиями места произрастания, технологий выращивания культур и заготовки кормов, видовым составом растений и фазой развития.

При анализе комбикормов и сырья образцы градуировочной партии должны также отражать варьирование свойств материала, связанное с различиями в видах сырья, источниках его поступления и технологиях приготовления кормов.

Градуировочные партии образцов для каждого вида корма (например, сена, консервированных кормов, искусственно-высушенных кормов), комбикорма (для отдельных видов животных) и сырья готовят отдельно. Допускается составление единых градуировочных уравнений для группы кормов, при условии, что они будут соответствовать требованиям 6.2.10 и раздела 8.

При работе на анализаторах, управляемых персональными компьютерами, из достаточно большой популяции образцов градуировочные образцы можно выбрать, используя специальное программное обеспечение, поставляемое с приборами, путем обработки спектральных данных образцов.

Количество проб для получения градуировочного уравнения, предназначенного для анализа образцов с варьирующим видовым составом, технологией производства кормов и пробоподготовки, должно быть не менее 90—100, а для получения градуировочного уравнения, предназначенного для анализа более однородной популяции образцов (например, одной культуры, одного вида корма, одного способа пробоподготовки и т.д.), можно использовать меньшее количество проб. Но во всех случаях количество проб должно быть достаточным для получения градуировочного уравнения, отвечающего требованиям 6.2.10 и раздела 8.

6.2.3 Образцы, предназначенные для градуировки, готовят к спектральному анализу теми же способами и с помощью того же оборудования, что и анализируемые. Если технология пробоподготовки к спектральному анализу предполагается различной, то в градуировочную партию включают образцы, подготовленные всеми ожидаемыми способами при условии, что получаемое градуировочное уравнение будет удовлетворять требованиям 6.2.10 и раздела 8. В противном случае для каждого способа подготовки проб к анализу получают отдельное градуировочное уравнение.

6.2.4 Химические анализы образцов градуировочной партии проб выполняют в двухкратной повторности.

Содержание сырого протеина определяют по ГОСТ 13496.4.

Содержание сырой клетчатки определяют по ГОСТ 13496.2.

Содержание сырого жира определяют по ГОСТ 13496.15.

Содержание влаги и гигровлаги определяют по ГОСТ 13496.3 и ГОСТ 27548.

6.2.5 Снятие спектров градуировочных образцов проводят согласно инструкции к приборам. Уделяют особое внимание чистоте оптики, встроенного стандарта и измерительной кюветы. Кювету и окно кюветы тщательно очищают перед каждым измерением. Обеспечивают однообразие техники заполнения кюветы пробой, которую тщательно перемешивают перед загрузкой кюветы, не допуская при этом ее расслоения. Избегают встряхивания и резких движений с заполненной кюветой. Измерения выполняют сразу после заполнения кюветы. Если позволяют возможности вычислительного устройства, для каждого образца проводят двухкратное заполнение кюветы при однократном измерении спектра заполненной кюветы. Не проводят измерения на материале, который находился в приборе в течение периода времени, превышающего один измерительный цикл.

6.2.6 В качестве модели при градуировке используют следующее уравнение:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 +, ..., b_nx_n,$$

где $b_0, ..., b_n$ — константы, определяемые статистическими методами;

$x_1, ..., x_n$ — независимые переменные, в качестве которых используют значения оптической плотности при длинах волн 1, ..., n или результаты их преобразований. Под оптической плотностью (D) в данном случае понимается десятичный логарифм обратного значения коэффициента отражения

$$D = \log (I/R),$$

где R — коэффициент отражения, определяемый следующим образом:

$$R = I/I_o,$$

где I_o — интенсивность излучения, отраженного встроенным в прибор отражателем при данной длине волны;

I — интенсивность излучения, отраженного пробой при той же длине волны.

В качестве независимых переменных также используют значения, получаемые в результате следующих математических преобразований оптической плотности:

- разность значений оптической плотности при двух длинах волн;
- отношение значений оптической плотности при двух длинах волн;
- первая и вторая производные оптической плотности.

Допускаются также другие виды преобразований при условии, что получаемое при этом градуировочное уравнение будет удовлетворять требованиям 6.2.10.

Для получения значений констант градуировочного уравнения используют метод множественного регрессионного анализа, анализ на главных компонентах и метод дробных (частных) наименьших квадратов.

Число переменных в градуировочном уравнении должно быть не более $1 + N/10$, где N — количество образцов в градуировочной партии при использовании метода множественной линейной регрессии. При использовании метода анализа главных компонент и дробных (частных) наименьших квадратов число переменных не должно превышать $3 + N/10$.

При расчете градуировочных уравнений для инфракрасных анализаторов, управляемых персональными компьютерами, используют специальное программное обеспечение, поставляемое с прибором. Если возможности вычислительного устройства инфракрасного анализатора ограничены расчетом констант уравнения множественной регрессии и оно не позволяет найти оптимальные для анализа длины волн и способы преобразования спектральных данных, необходимую информацию получают с помощью более мощных компьютеров и соответствующего программного обеспечения. При отсутствии и такой возможности используют рекомендуемые значения длин волн и способы математического преобразования спектральных данных, приведенные в приложении. В этом случае рекомендуемые длины волн и способ математического преобразования спектральных данных вводят в прибор перед снятием спектров градуировочных образцов.

6.2.7 При вычислении констант градуировочного уравнения результаты химических анализов проб вводят в расчете на сухое или воздушно-сухое вещество. В первом случае результаты анализов на приборе с использованием полученных уравнений также будут в расчете на сухое вещество. Во втором случае для вычисления констант уравнений данные о содержании компонентов в воздушно-сухом веществе сканируемой пробы вычисляют, исходя из содержания в ней гигровлаги, определенной непосредственно перед сканированием пробы. При этом результаты анализов на приборе с использованием градуировочных уравнений также будут отнесены на воздушно-сухое состояние продукта.

6.2.8 При вычислении констант градуировочных уравнений данные для некоторых образцов, значительно отклоняющиеся от линии регрессии, могут быть исключены из расчетов после тщательного выяснения причин отклонения. Причиной отклонения могут быть ошибки при снятии спектров или при выполнении химических анализов, или при введении результатов анализов в компьютер. Если такие ошибки исключены, причиной отклонения могут быть большие отличия спектра данных образцов от спектров образцов градуировочной популяции. В этом случае в градуировочную партию включают еще несколько подобных образцов. Полученное при этом уравнение должно удовлетворять требованиям 6.2.10 и раздела 8. В противном случае из образцов, спектры которых значительно отличаются от спектров образцов градуировочной партии, формируют отдельную градуировочную партию. При работе на приборах, управляемых ПЭВМ, такие образцы могут быть выявлены путем использования специальных программ, поставляемых с прибором.

6.2.9 Градуировочное уравнение, полученное на одном приборе, может быть использовано для анализов на других приборах той же модели после его оценки и, если это необходимо, корректировки для данного прибора согласно требованиям 6.2.10.

6.2.10 Градуировочное уравнение, полученное на данном приборе или перенесенное с другого прибора, подлежит обязательной оценке. Для этого подбирают партию из не менее 20 образцов, не использованных при градуировке, но представительных по отношению к образцам градуировочной партии, а также к тем, для анализа которых градуируется прибор. Пробы должны охватить весь диапазон содержания компонента и должны быть равномерно по нему распределены. Подготовку к анализу, химические анализы, измерение интенсивности инфракрасного отражения этих проб проводят также, как и градуировочных.

На основании сравнения результатов, полученных химическим (y) и инфракрасным (x) методами, рассчитывают среднюю разность $\overline{d}$, или смещение по формуле

$$\overline{d} = \frac{\Sigma(x_i - y_i)}{n},$$

где x_i — результат анализа i-того образца инфракрасным методом;
y_i — результат анализа i-того образца стандартным методом;
n — количество сравниваемых проб.

После этого вносят поправку на смещение, вычитая среднюю разность $\overline{d}$ из b_0 — свободного члена градуировочного уравнения.

Для проверки точности анализов вычисляют среднее квадратическое отклонение разностей между результатами, полученными инфракрасным и стандартными методами (после внесения поправки на смещение), S_d по формуле

$$S_d = \sqrt{\frac{\Sigma d_i^2}{n-1}},$$

где $d_i = x_i - y_i$.

Если сравниваются результаты анализа одной партии из 20 проб, значение S_d не должно превышать 1,0 % для сырого протеина, 2,0 % для сырой клетчатки, 0,5 % для сырого жира и 0,3 % для влаги и гигровлаги.

Если сравниваются результаты для большего количества проб, указанные значения снижаются на 25 % относительных (например, S_d для сырого протеина становится равным 0,8 %).

Если точность полученных результатов выходит за указанные пределы, вычисляют уравнение регрессии между результатами, полученными стандартным и инфракрасным методами вида

$$y = a + bx,$$

где y — результат анализа химическим методом;
x — результат анализа инфракрасным методом;
a и b — константы уравнения.

После этого вносят поправку в градуировочное уравнение путем умножения всех коэффициентов, включая свободный член (b_0) на значение b и прибавления значения a к b_0. Используя исправленное уравнение, вновь повторяют действия, изложенные в 6.2.10 и, если при этом S_d превышает указанные пределы, прибор должен быть отградуирован заново.

7 Проведение испытания

Проведение испытания заключается в снятии спектра испытуемой пробы. Вычислительное устройство инфракрасного анализатора, используя заданные градуировочные уравнения, рассчитывает содержание определяемых компонентов, значение которого высвечивается на экране и может быть, при необходимости, выведено на печать.

На инфракрасных анализаторах, управляемых персональными компьютерами, анализ проб проводят, используя специальную программу, поставляемую с прибором. При работе на других приборах, например, на приборе "Инфрапид 61", в прибор вводят константы градуировочных уравнений и соответствующие им длины волн, а также способ преобразования спектральных данных.

Спектры испытуемых проб снимают, как изложено в 6.2.5.

8 Обработка результатов

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений, выполненных путем двухкратного заполнения кюветы пробой. Результат вычисляют до второго десятичного знака и округляют до первого десятичного знака.

Допускаемые расхождения между результатами параллельных определений не должны превышать для сырого протеина и сырой клетчатки — 1,0 %, сырого жира — 0,3 %, влаги — 0,3 % в абсолютном выражении.

Когда на приборе результаты анализа получают в расчете на воздушно-сухое вещество, массовую долю определяемых компонентов в сухом веществе X в процентах вычисляют по формуле

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

где X_1 — массовая доля компонента в испытуемой воздушно-сухой пробе, %;

W — массовая доля гигровлаги в испытуемой пробе, %.

Для выборочного контроля правильности результатов в ходе серийных анализов часть проб анализируют стандартным химическим и инфракрасным методами. Эти пробы выбирают так, чтобы они представляли анализируемую совокупность по видам, рецептам комбикормов, выпускаемых или используемых на предприятии, учитывая при этом изменения источников поступления сырья, замену одних ингредиентов на другие; в случае травяных кормов — виды кормовых угодий и кормов, варианты внесения удобрений, технологий заготовки кормов. Число выбранных проб должно быть не менее 10 % от общего количества анализируемых образцов. При проведении химических анализов выбранных образцов контролируют правильность результатов.

Расхождения между результатами, полученными химическим и инфракрасным методами ($D_{абс}$) не должны превышать следующих значений:

$D_{абс} = 1{,}095 + 0{,}032\,\overline{X}$ — для сырого протеина;

$D_{абс} = 2{,}16 + 0{,}038\,\overline{X}$ — для сырой клетчатки;

$D_{абс} = 0{,}641 + 0{,}055\,\overline{X}$ — для сырого жира,

где $\overline{X}$ — среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, выполненных химическим методом.

При количестве анализируемых проб химическими методами, равном 3—5, не допускается наличие расхождений, превышающих установленные допуски; при количестве проб, равном 7—10, допускается превышение установленных допусков для одной пробы и при количестве проб, равном 11—15, — для двух проб.

9 Стабильность работы прибора и градуировочных характеристик

9.1 Диагностику инфракрасных анализаторов, управляемых ПЭВМ, проводят согласно инструкции к приборам, используя специальное программное обеспечение и контрольный образец, поставляемые в комплекте с прибором.

9.2 Для текущего контроля за стабильностью прибора "Инфрапид 61" на предприятии готовят три контрольных образца (КО) с содержанием сырой клетчатки по краям и в середине градуировочного диапазона (например, 20, 27 и 35 %). Исходным материалом для КО служат кормовые травы

из числа наиболее часто анализируемых видов. Масса КО составляет около 0,5 кг воздушно-сухого вещества. Подготовку проб проводят, как изложено в 6.1. Приготовленные образцы хранят в герметичной таре в темном месте при комнатной температуре.

Ежедневно в ходе анализа рядовых проб анализируют КО на содержание сырой клетчатки, как указано в разделе 7. Допускаемые расхождения между результатом текущего дня и средним арифметическим результатом за предыдущие дни не должны превышать 1,5 %.

9.3 Однажды проведенная градуировка применима до тех пор, пока она по точности удовлетворяет требованиям 6.2.10 и раздела 8. Однако рекомендуется ежегодно проводить оценку и коррекцию градуировки в соответствии с требованиями 6.2.10, предпочтительно в начале анализа образцов урожая нового сезона.

10 Требования техники безопасности

10.1 Работы по измельчению высушенных проб и заполнению кюветы пробой проводят в вытяжном шкафу.

10.2 Необходимо соблюдать правила безопасной работы с измельчителем проб растений и мельницей, а также основные правила работы с электроприборами.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(рекомендуемое)

Значения длин волн для анализа некоторых кормов на приборе "Инфрапид 61"

Компонент	Математика*	Значения длин волн, нм
		Корма травяные и комбикорма
Протеин Клетчатка Жир Влага	1	$\lambda_1 = 2130$, $\lambda_2 = 2215$, $\lambda_3 = 2050$, $\lambda_4 = 2120$, $\lambda_5 = 2254$, $\lambda_6 = 2308$, $\lambda_7 = 2310$, $\lambda_8 = 2332$, $\lambda_9 = 1682$, $\lambda_{10} = 1720$, $\lambda_{11} = 2010$, $\lambda_{12} = 2054$ или $\lambda I = 1672$, $\lambda_3 = 1700$, $\lambda_5 = 1940$, $\lambda_7 = 2100$, $\lambda_9 = 2180$, $\lambda 11 = 2336$; λ_2, λ_4, λ_6, λ_8, λ_{10}, $\lambda_{12} = 0$ или $\lambda_1 = 1680$, $\lambda_3 = 1940$, $\lambda_5 = 2100$, $\lambda_7 = 2180$, $\lambda_9 = 2230$, $\lambda_{11} = 2310$; λ_2, λ_4, λ_6, λ_8, λ_{10}, $\lambda_{12} = 0$
Протеин	0	$\lambda_1 = 1998$, $\lambda_2 = 1460$, $\lambda_3 = 2200$, $\lambda_4 = 1396$
Клетчатка	1	$\lambda_1 = 1680$, $\lambda_3 = 1445$, $\lambda_5 = 1734$, $\lambda_7 = 2190$, $\lambda_9 = 2348$, $\lambda_{11} = 2336$; λ_2, λ_4, λ_6, λ_8, λ_{10}, $\lambda_{12} = 0$
Гигровлага	0	$\lambda_1 = 1940$, $\lambda_2 = 2190$
		Фуражное зерно
Протеин Клетчатка Жир Гигровлага	1	$\lambda_1 = 1867$, $\lambda_2 = 1920$, $\lambda_3 = 2118$, $\lambda_4 = 2167$, $\lambda_5 = 2250$, $\lambda_6 = 2296$

*Вид математического преобразования оптических данных. Математика I означает оптическую плотность, математика 0 — коэффициент отражения.

Примечания

1 Нулевое значение длины волны означает нуль оптической плотности.

2 При градуировке прибора "Инфрапид 61" в уравнении в качестве независимых переменных используют разности значений оптической плотности или коэффициента отражения при двух длинах волн.

ОКС 65.120.19 С 19 ОКП 92 9600

Ключевые слова: корма, анализ, сырой протеин, сырая клетчатка, сырой жир, влага, спектроскопия в ближней инфракрасной области, инфракрасный анализатор, точность анализов

gost.e-ecolog.ru