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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 5983-2— 2016

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина

Часть 2

Метод с использованием блока озоления и перегонки с водяным паром

(ISO 5983-2:2009,
Animal feeding stuffs — Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content — Part 2: Block digestion and steam distillation method,
IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «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 официального перевода на русский язык англоязычной версии международного стандарта, указанного в пункте 5, который выполнен ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт классификации, терминологии и информации по стандартизации и качеству» (ВНИИКИ)

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 4 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 31 августа 2016 г. № 90-П)

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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 октября 2016 г. № 1491-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 5983-2—2016 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2018 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 5983-2:2009 «Корма для животных. Определение содержания азота и расчет содержания сырого белка. Часть 2. Метод с использованием блока для озоления и перегонки с водяным паром» («Animal feeding stuffs — Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content — Part 2: Block digestion and steam distillation method», IDT).

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

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001 (подраздел 3.6) для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

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

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты» (по состоянию на 1 января текущего года), а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2016

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 1
3 Термины и определения 1
4 Сущность метода 2
5 Реактивы 2
6 Оборудование 3
7 Отбор проб 4
8 Подготовка пробы для испытания 4
9 Проведение испытания 4
9.1 Общие положения 4
9.2 Подготовка навески 4
9.3 Определение 4
9.4 Контрольное испытание 6
9.5 Испытания на извлечение 6
10 Обработка результатов 6
10.1 Вычисление 6
10.2 Вычисление массовой доли сырого протеина 7
10.3 Выражение результатов содержания сырого протеина 7
11 Прецизионность 8
11.1 Межлабораторные испытания 8
11.2 Повторяемость 8
11.3 Воспроизводимость 8
12 Протокол испытания 8
Приложение А (справочное) Результаты межлабораторных испытаний 9
Приложение В (справочное) Результаты квалификационного испытания; сравнение результатов определения конечной точки при колориметрическом и потенциометрическом титровании 13
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам 14
Библиография 15

Введение

ISO 5983 «Корма для животных. Определение содержания азота и вычисление содержания сырого протеина» состоит из двух частей:

- Часть 1: Метод Къельдаля;
- Часть 2: Метод с использованием блока озоления и перегонки с водяным паром.

Настоящий стандарт является второй частью ISO 5983 и устанавливает метод определения массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина с использованием блока озоления и перегонки с водяным паром.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Использование настоящего стандарта может включать опасные материалы, процессы и оборудование. Настоящий стандарт не ставит своей целью рассмотрение всех рисков для безопасности, связанных с его применением. Установление соответствующих правил по технике безопасности и охране здоровья и определение применимости регламентных ограничений перед его использованием является обязанностью пользователя настоящего стандарта.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина

Часть 2

Метод с использованием блока озоления и перегонки с водяным паром

Feeds, compound feeds, feed raw materials. Determination of mass fraction of nitrogen and calculation of mass fraction of crude protein. Part 2. Block digestion and steam distillation method

Дата введения — 2018—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения массовой доли азота в кормах, комбикормах, комбикормовом сырье по Къельдалю и вычисление массовой доли сырого протеина.

Данный метод можно использовать в качестве полумикроэкспресс-метода с применением блока озоления, медного катализатора и перегонки с водяным паром в борную кислоту.

Данный метод распространяется на корма, комбикорма и комбикормовое сырье с массовой долей азота более 0,5 %.

Данным методом не определяются окисленные формы азота или гетероциклические соединения азота.

Этим методом нельзя отдельно определить белковый и небелковый азот.

Примечание — Если необходимо определить массовую долю небелкового азота, следует использовать соответствующий метод.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на межгосударственные стандарты, которые являются обязательными. Для датированных ссылок применяют только указанное издание. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения).

ISO 1871, Food and feed products — General guidelines for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method (Продукты пищевые и кормовые. Определение содержания азота методом Кьельдаля. Общие руководящие указания)

ISO 6498:1998, Animal feeding stuffs — Guidelines for sample preparation (Корма для животных. Руководящие указания по подготовке проб)[1)]

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями.

3.1 **содержание азота** (nitrogen content): Массовая доля азота, определенная по методике, установленной настоящим стандартом.

[1)] Стандарт заменен на ISO 6498:2012, однако для однозначного соблюдения требования настоящего стандарта, выраженного в датированной ссылке, рекомендуется использовать только указанное в этой ссылке издание.

Издание официальное

Примечание — Содержание азота выражают в виде массовой доли в процентах или в граммах на килограмм.

3.2 **содержание сырого протеина** (crude protein content): Содержание азота (см. 3.1) в виде массовой доли, умноженное на коэффициент 6,25.

Примечание — Содержание сырого протеина выражают в виде массовой доли в процентах или в граммах на килограмм.

4 Сущность метода

Сущность метода заключается в разложении навески в блоке озоления или на аналогичном оборудовании. При этом для превращения белкового азота в сульфат аммония используют концентрированную серную кислоту в присутствии катализатора (сульфата калия и сульфата меди) при температуре кипения.

Выделяемый аммиак отгоняют, используя ручной, полуавтоматический или полностью автоматический аппарат для перегонки с водяным паром. В случае использования ручной или полуавтоматической перегонки с водяным паром после отгонки аммиака в избыток раствора борной кислоты выполняют титрование раствором соляной кислоты до достижения колориметрической конечной точки. В случае использования полностью автоматической системы автоматическое титрование аммиака выполняется одновременно с перегонкой, а конечная точка титрования может быть также определена с помощью потенциометрической pH-системы.

Массовую долю азота вычисляют, исходя из количества полученного аммиака. Массовую долю сырого протеина получают, умножая результат на переводной коэффициент 6,25.

Примечание — Допускается для титрования использовать серную кислоту.

5 Реактивы

При анализе используют реактивы только признанной аналитической чистоты, если не оговорено иначе, дистиллированную или деионизированную воду, или воду эквивалентной чистоты.

5.1 Таблетки катализатора Къельдаля, содержащие 3,5 г сульфата калия и 0,4 г пентагидрата сульфата меди (II) на таблетку.

Можно использовать и другие типы таблеток при условии, что:

a) они содержат такое количество сульфата калия, что может быть распределено 7 г сульфата калия и 0,8 г пентагидрата сульфата меди (II), используя целое число целых таблеток,

b) они не содержат солей токсичных металлов, таких как селен или ртуть.

5.2 Серная кислота (H_2SO_4) с массовой долей не менее 98 %, не содержащая азот ($\rho_{20} \approx 1{,}84$ г/см^3).

5.3 Раствор перекиси водорода, содержащий приблизительно 30 г H_2O_2 в 100 см^3.

5.4 Противовспенивающий реактив. Рекомендуются составы на основе силикона, например водная эмульсия с массовой долей 30 %.

5.5 Раствор гидроокиси натрия (NaOH) с массовой долей приблизительно 40 %, не содержащий азот (менее 5 мкг азота на грамм).

5.6 Растворы индикаторов

5.6.1 Раствор метилового красного. Растворяют 100 мг метилового красного ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) в 100 см^3 этанола или метанола.

5.6.2 Бромкрезоловый зеленый. Растворяют 100 мг бромкрезолового зеленого ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) в 100 см^3 этанола или метанола.

5.7 Концентрированный раствор борной кислоты, $c(H_3BO_3)$ = 40,0 г/ дм^3

Растворяют 400 г борной кислоты приблизительно в 5—6 дм^3 горячей воды. Перемешивают и добавляют еще горячей воды до объема приблизительно 9 дм^3. Оставляют охлаждаться до комнатной температуры. Добавляют 70 см^3 раствора метилового красного (см. 5.6.1), 100 см^3 раствора бромкрезолового зеленого (см. 5.6.2) и перемешивают. Разбавляют водой до конечного объема 10 дм^3 и тщательно перемешивают. В зависимости от используемой воды значение pH раствора борной кислоты может изменяться. Для получения положительного результата при контрольном опыте (от 0,05 до 0,15 см^3

титрованного раствора) часто требуется сделать корректировку небольшим объемом щелочи. Окраска должна становиться зеленой при добавлении 100 см^3 воды к 25 см^3 раствора борной кислоты. Если окраска все еще красная, титруют раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3 до достижения «нейтрально-серого» цвета и рассчитывают объем щелочи, необходимый для приготовления 10 дм^3 раствора.

Раствор с красной окраской хранят при комнатной температуре и защищают от воздействия света и источников паров аммиака.

5.8 Разбавленный раствор борной кислоты, $c(H_3BO_3)$ = 10,0 г/дм^3 (дополнительный улавливающий раствор для титраторов, которые автоматически начинают титрование с началом перегонки)

Растворяют 100 г борной кислоты приблизительно в 5—6 дм^3 горячей воды, перемешивают и добавляют еще горячей воды до объема приблизительно 9 дм^3. Оставляют охлаждаться до комнатной температуры. Добавляют 70 см^3 раствора метилового красного (см. 5.6.1) и 100 см^3 раствора бромкрезолового зеленого (см. 5.6.2) и перемешивают. Разбавляют водой до конечного объема 10 дм^3 и тщательно перемешивают. В зависимости от используемой воды значение pH раствора борной кислоты может изменяться. Для получения положительного результата при контрольном опыте (от 0,05 до 0,15 см^3 титрованного раствора) часто требуется сделать корректировку небольшим объемом щелочи. Окраска должна становиться зеленой при добавлении 100 см^3 воды к 25 см^3 раствора борной кислоты. Если окраска все еще красная, титруют раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3 до достижения «нейтрально-серого» цвета и рассчитывают объем щелочи, необходимый для приготовления 10 дм^3 раствора.

Раствор со светло-зеленой окраской хранят при комнатной температуре в защищенном от воздействия света и источников паров аммиака месте.

Примечание — Оптимальные корректировки обычно получают при добавлении приблизительно от 3 до 4 см^3 раствора гидроокиси натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3 к 1 дм^3 раствора борной кислоты с массовой долей 1 %.

5.9 Титрованный раствор соляной кислоты, $c(HCl)$ = 0,1000 моль/дм^3

Допускается использование растворов соляной или серной кислоты других молярных концентраций при условии, что в расчеты внесены соответствующие поправки. Концентрации всегда следует выражать с точностью до четвертого десятичного знака.

5.10 Сульфат аммония $[(NH_4)_2SO_4]$, с массовой долей не менее 99,5 %, проверенной чистоты. Сушат сульфат аммония при температуре (102 ± 2) °С в течение 4 ч и хранят в эксикаторе.

Массовая доля азота в сульфате аммония при чистоте 99,5 % составляет 21,09 %.

5.11 Сульфат железа(II)-аммония (соль Мора) $[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O]$ проверенной чистоты.

Массовая доля азота в соли Мора при чистоте 100 % составляет 7,145 %.

5.12 Стандартные вещества

Используют одно из стандартных веществ, указанных в 5.12.1 и 5.12.2.

Кроме стандартных веществ, перечисленных в 5.12.1 и 5.12.2, следует использовать стандартные образцы с аттестованными значениями содержания азота по Къельдалю и сырого протеина всякий раз, когда это возможно.

Примечание — Содержание влаги можно проверить на отдельной навеске.

5.12.1 Триптофан ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) с точкой плавления 282 °С и содержанием азота 137,2 г/кг. Перед использованием триптофан сушат.

5.12.2 Ацетанилид(C_8H_9NO) с массовой долей не менее 99 % и содержанием азота 103,6 г/кг. Перед использованием в сушильном шкафу не сушат.

5.13 Сахароза ($C_{12}H_{22}O_{11}$) с массовой долей азота не более 0,002 %. Перед использованием в сушильном шкафу не сушат.

6 Оборудование

Используют следующее лабораторное оборудование.

6.1 Весы аналитические с точностью взвешивания и считывания до 0,1 мг.

6.2 Блок озоления из алюминиевого сплава или аналогичный блок, снабженный регулятором температуры и устройством для измерения температуры блока, способный поддерживать температуру (420 ± 5) °С.

6.3 Пробирки для озоления вместимостью 250 $см^3$, пригодные для использования в блоке озоления (см. 6.2).

6.4 Коллектор отсасывающего устройства, пригодный для использования с пробирками для озоления (см. 6.3).

6.5 Скруббер центрифужный, водоструйный насос или отсасывающее устройство, изготовленные из кислотоустойчивого материала, для использования с магистральным водопроводом.

6.6 Пипетки (дозаторы) автоматические, пригодные для подачи порций объемом до 25 $см^3$ по [6], ([8]).

6.7 Цилиндры градуированные вместимостью 50 $см^3$.

6.8 Аппарат для перегонки, пригодный для перегонки с водяным паром, ручной или полуавтоматический, пригодный для подсоединения к пробиркам для озоления (см. 6.3) и коническим колбам (см. 6.9), или для перегонки с водяным паром и автотитрования.

6.9 Колбы конические вместимостью 250 $см^3$.

6.10 Бюретка вместимостью 25 $см^3$ или другой подходящей вместимости, с возможностью считывания до 0,05 $см^3$ по [1], класс А.

Допускается использование автоматической бюретки по [7], удовлетворяющей тем же требованиям.

6.11 Титратор автоматический с pH-метром, откалиброванным в диапазоне значений от 4 до 7 ед. pH.

7 Отбор проб

В лабораторию следует поставлять представительную пробу. Она не должна подвергаться порче или изменению во время транспортирования или хранения.

Рекомендуемый метод отбора проб приведен в [5].

8 Подготовка пробы для испытания

Подготовку пробы для испытания проводят в соответствии с ISO 6498.

9 Проведение испытания

9.1 Общие положения

Обычно пробы для испытания анализируют сериями в соответствии с установленной методикой. Общие положения по применению метода Къельдаля приведены в ISO 1871.

9.2 Подготовка навески

Навеску взвешивают с точностью до 0,1 мг:

a) приблизительно 1,0 г для продуктов с массовой долей протеина от 3 % до 30 % включительно;

b) приблизительно 0,5 г для продуктов с массовой долей протеина более 30 % до 80 % включительно;

c) приблизительно 0,3 г для продуктов с массовой долей протеина более 80 %.

Масса навески не должна превышать 1,2 г.

Проводят контроль качества стандартных веществ, а также контрольное испытание на реактивы для каждой новой партии.

9.3 Определение

9.3.1 Озоление

Переносят навески (см. 9.2) в пробирки для озоления (см. 6.3) и добавляют по две таблетки катализатора (см. 5.1) в каждую пробирку. С помощью пипетки-дозатора в каждую пробирку добавляют по 12 $см^3$ серной кислоты (см. 5.2). Для продуктов с высоким содержанием жира (с массовой долей жира более 10 %) добавляют 15 $см^3$ серной кислоты (см. 5.2). На этой стадии определение можно остановить и продолжить работу на следующий день.

Если происходит пенообразование, медленно добавляют от 3 до 5 $см^3$ перекиси водорода (см. 5.3). Осторожно взбалтывают и оставляют до ослабления реакции. Допускается использовать несколько капель противовспенивающего реактива (см. 5.4).

Закрепляют теплозащитные боковые экраны на штативе с пробирками. Коллектор отсасывающего устройства (см. 6.4) плотно устанавливают на пробирки и включают водоструйное отсасывающее устройство или скруббер (см. 6.5) на полную мощность. Помещают штатив с пробирками в предварительно нагретый до температуры 420 °С блок озоления (см. 6.2).

Через 10 мин уменьшают ток воды в отсасывающем устройстве до тех пор, пока дым от кислоты не улетучится из вытяжного шкафа. Следует поддерживать зону конденсации в пределах пробирки. После образования большей части дыма от оксидов серы на начальных стадиях озоления необходимо снизить вакуум для предотвращения потерь серной кислоты.

Озоляют еще в течение 50 мин. Необходимо, чтобы общее время озоления составляло приблизительно 60 мин.

Выключают блок озоления. Вынимают штатив с пробирками, которые все еще подсоединены к коллектору отсасывающего устройства, и помещают его на подставку для охлаждения на 10—20 мин. После прекращения выделения дыма удаляют коллектор и выключают отсасывающее устройство. Вынимают боковые экраны.

Пробирки оставляют для охлаждения. Рекомендуется предварительно до начала перегонки разбавить пробы вручную. Осторожно, в перчатках, и обеспечивая защиту глаз, добавляют в каждую пробирку по несколько сантиметров кубических воды. Если происходит разбрызгивание, то это означает, что пробирки остаются все еще слишком горячими. Оставляют их для охлаждения еще на несколько минут. В каждую пробирку добавляют воду до достижения общего объема приблизительно 80 $см^3$.

Если проба затвердевает, пробирку с разбавленным продуктом разложения помещают в блок озоления и осторожно нагревают, изредка взбалтывая, до растворения солей или перегоняют в течение еще 30—60 с.

Примечания

1 В некоторых аппаратах добавление воды происходит автоматически. Предварительное разбавление перед размещением пробирок в аппарат для перегонки требуется только в том случае, если образуется очень твердый остаток.

2 В некоторых аппаратах для перегонки добавление водяного пара начинается до добавления щелочи, что приводит к растворению сульфатного остатка и менее интенсивной реакции во время добавления щелочи. Кристаллизация во время озоления может вызвать потери азота.

9.3.2 Перегонка

Пробирки с навесками после озоления (см. 9.3.1) переносят в аппарат для перегонки (см. 6.8).

Если титрование для определения содержания аммиака в дистилляте выполняется вручную, используют методику, описанную ниже. Если аппарат для перегонки полностью автоматизирован и включает титрование для определения содержания аммиака в дистилляте, следуют инструкциям изготовителя по эксплуатации этого аппарата.

Помещают коническую колбу (см. 6.9), содержащую от 25 до 30 $см^3$ концентрированного раствора борной кислоты (см. 5.7), под выпускное отверстие холодильника таким образом, чтобы подающая трубка была ниже поверхности концентрированного раствора борной кислоты. Добавляют в аппарат для перегонки 50 $см^3$ раствора гидроокиси натрия (см. 5.5). В соответствии с инструкцией изготовителя аппарата для перегонки отгоняют аммиак, выделенный при добавлении раствора гидроокиси натрия. Собирают дистиллят в полученный раствор борной кислоты. Количество дистиллята (время перегонки с водяным паром) зависит от содержания азота в пробе. Следуют инструкциям изготовителя.

Примечание — В случае использования полуавтоматического аппарата для перегонки добавление гидроокиси натрия и перегонка с водяным паром происходит автоматически.

9.3.3 Титрование

9.3.3.1 Колориметрическое титрование

Титруют содержимое конической колбы (см. 6.9) титрованным раствором соляной кислоты (см. 5.9) с помощью бюретки (см. 6.10) и записывают объем использованного титрованного раствора. Конечная точка достигается при появлении первых следов розовой окраски содержимого. Оценивают показание бюретки с точностью до 0,05 $см^3$. Для облегчения визуального определения конечной точки титрования можно использовать магнитную мешалку с подсветкой или фотометрический детектор.

Титрование может выполняться автоматически при использовании аппарата для перегонки с водяным паром с автоматическим титрованием.

9.3.3.2 Потенциометрическое титрование

Титруют содержимое конической колбы (см. 6.9) титрованным раствором соляной кислоты (см. 5.9) с помощью надлежащим образом откалиброванного автоматического титратора с pH-метром (см. 6.11). Конечная точка титрования достигается при значении 4,6 ед. pH, причем она является самой высокой точкой на кривой титрования (точка перегиба). Считывают объем использованного титрованного раствора по автоматическому титратору.

При использовании специального аппарата для перегонки или аппарата для перегонки с титратором следуют инструкциям изготовителя.

В случае применения автоматической системы титрования титрование начинается сразу же после начала перегонки, при этом необходимо использовать разбавленный раствор борной кислоты (см. 5.8).

9.4 Контрольное испытание

Выполняют контрольное испытание, следуя методике, описанной в 9.1—9.3, используя вместо навески 2 $см^3$ воды и приблизительно 0,7 г сахарозы (см. 5.13). Сохраняют запись контрольных значений. Если контрольные значения меняются, устанавливают причину.

Необходимо, чтобы объем титрованного раствора, использованного для контрольного опыта, был всегда более 0,0 $см^3$. Контрольные значения в пределах одной и той же лаборатории должны быть постоянны со временем.

9.5 Испытания на извлечение

9.5.1 Общие положения

Для проверки точности методики и оборудования регулярно проводят испытания на извлечение, как описано в 9.5.2—9.5.4.

9.5.2 Потеря азота

Помещают 0,12 г сульфата аммония (см. 5.10) и 0,67 г сахарозы (см. 5.13) в колбу. Добавляют все другие реактивы, как указано в 9.3. Озоляют и перегоняют в тех же самых условиях, что и навеску. Массовая доля извлеченного азота должна составлять не менее 99 %.

9.5.3 Эффективность озоления

Используют не менее 0,15 г триптофана (см. 5.12.1) или ацетанилида (см. 5.12.2), взвешенных с точностью до 0,1 мг, и приблизительно 0,7 г сахарозы (см. 5.13).

Определяют массовую долю азота в соответствии с методикой, описанной в 9.1—9.3. Массовая доля извлеченного азота должна составлять не менее 99,5 % для ацетанилида и не менее 98,5 % для триптофана [9].

9.5.4 Эффективность перегонки и титрования

Взвешивают в пробирку 0,10—0,15 г сульфата аммония (см. 5.10) или 0,3—0,5 г соли Мора (см. 5.11) с точностью до 0,0001 г. Добавляют 80 $см^3$ воды и продолжают испытание в соответствии с 9.3.2 и 9.3.3. Массовая доля извлеченного азота должна составлять не менее 99,5 %.

9.5.5 Пределы

Значение массовой доли извлеченного азота менее установленных значений или более 101,0 % для любого из вышеперечисленных испытаний на извлечение указывает на нарушения методики и/или неточную концентрацию титрованного раствора соляной кислоты (5.9).

10 Обработка результатов

10.1 Вычисление

10.1.1 Вычисление массовой доли азота

Вычисляют массовую долю азота в пробе w_N, %, по формуле

$$w_N = \frac{1{,}4007 \cdot (V_s - V_b) \cdot C_s}{m}, \quad (1)$$

где 1,4007 — коэффициент;

V_s — объем титрованного раствора соляной кислоты (см. 5.9), использованный при определении (см. 9.3), (выраженный с точностью до 0,05 $см^3$), $см^3$;

V_b — объем титрованного раствора соляной кислоты (см. 5.9), использованный в контрольном опыте (см. 9.4), (выраженный с точностью до 0,05 см^3), см^3;

C_s — точная молярная концентрация титрованного раствора соляной кислоты (см. 5.9), выраженная с точностью до четвертого десятичного знака, моль/дм^3;

m — масса навески (см. 9.2), г.

Для выражения результата в граммах на килограмм в формуле (1) вместо коэффициента 1,4007 следует использовать коэффициент 14,007.

10.1.2 Вычисление массовых долей извлеченных солей аммония

Вычисляют массовую долю извлеченных солей сульфата аммония со степенью чистоты 99,5 % w_1, %, по формуле

$$w_1 = \frac{w_{N,r} \cdot 100}{21{,}09}, \quad (2)$$

где $w_{N,r}$ — массовая доля извлеченного азота, %;

100 — коэффициент перевода в проценты;

21,09 — коэффициент.

Вычисляют массовую долю извлеченной соли Мора со степенью чистоты 100 % w_2,%, по формуле

$$w_2 = \frac{w_{N,r} \cdot 100}{7{,}145}, \quad (3)$$

где $w_{N,r}$ — массовая доля извлеченного азота, %;

100 — коэффициент перевода в проценты;

7,145 — коэффициент.

При использовании солей аммония других степеней чистоты в формулах (2) и (3) в делители вносят поправки.

10.2 Вычисление массовой доли сырого протеина

Вычисляют массовую долю сырого протеина w_p, %, по формуле

$$w_P = w_N \cdot f_K, \quad (4)$$

где w_N — массовая доля азота в пробе, вычисленная с точностью до четвертого десятичного знака (10.1), %;

f_K — коэффициент пересчета массовой доли азота по Къельдалю в массовую долю сырого протеина; для кормов f_K = 6,25.

Для выражения содержания сырого протеина в граммах на килограмм полученный по формуле (4) результат умножают на коэффициент 10.

10.3 Выражение результатов содержания сырого протеина

Выражают результаты с точностью до четвертого знака, если они необходимы для дальнейших расчетов. В случае конечных результатов выражают результаты, полученные для вычисления содержания азота, с точностью до третьего десятичного знака, а результаты, полученные для вычисления белка, с точностью до второго десятичного знака.

Кроме того, не следует округлять полученные результаты, пока экспериментальное значение не будет использовано окончательно. Это особенно справедливо, когда значения будут использоваться для дальнейших расчетов.

Примечания

1 Когда индивидуальные экспериментальные значения, полученные при анализе многих проб, используют для расчета статистических параметров метода для определения внутри- и межлабораторного отклонения.

2 Когда значения используют в качестве эталонных для градуировки прибора (например, инфракрасного анализатора), где значения, полученные при анализе многих проб, применяют для расчета простой или множественной регрессии до их использования для дальнейших расчетов.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Сведения о межлабораторных испытаниях по установлению прецизионности метода с использованием колориметрического определения конечной точки приведены в приложении А. Значения, полученные в результате проведения этих межлабораторных испытаний, не могут быть применены к диапазонам концентраций и пробам, отличающимся от указанных в настоящем стандарте.

Сведения о квалификационных испытаниях, в которых проведенное сравнение результатов определения конечной точки при колориметрическом и потенциометрическом титровании показало их эквивалентность, приведены в приложении В.

11.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух отдельных независимых испытаний, полученными при использовании одного и того же метода на одной лабораторной пробе в одной лаборатории одним и тем же оператором на одном и том же оборудовании в пределах короткого промежутка времени, не должно превышать более чем в 5 % случаев предел повторяемости *r,* определяемый в виде массовой доли сырого протеина в процентах по формуле

$$r = 0{,}234 + 0{,}005\overline{w}_P, \quad (5)$$

где 0,234 — постоянная величина;

0,005 — коэффициент;

$\overline{w}_P$ — среднеарифметическое значение результатов двух отдельных испытаний по определению массовой доли сырого протеина, %.

11.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых испытаний, полученными при использовании одного и того же метода на идентичных пробах в разных лабораториях разными операторами на различных экземплярах оборудования, не должно превышать более чем в 5 % случаев предел воспроизводимости *R*, определяемый в виде массовой доли сырого протеина в процентах по формуле

$$R = 0{,}193 + 0{,}029\overline{w}_P, \quad (6)$$

где 0,193 — постоянная величина;

0,029 — коэффициент;

$\overline{w}_P$ — среднеарифметическое значение результатов двух независимых испытаний по определению массовой доли сырого протеина, %.

12 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать следующее:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

b) используемый метод отбора проб, если известен;

c) подробности используемого метода испытания вместе со ссылкой на данную часть ISO 5983;

d) все подробности, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как необязательные, вместе с подробностями всех случаев, которые могли бы повлиять на результаты испытания;

e) полученные результаты испытания, либо содержание азота, выраженное в виде массовой доли в процентах или в граммах на килограмм, либо содержание сырого протеина, выраженное в виде массовой доли в процентах или в граммах на килограмм, вместе с коэффициентом пересчета 6,25;

f) в случае проверки повторяемости — конечный полученный результат;

g) в случае проверки извлечения — конечный полученный результат.

Приложение А
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

Первое межлабораторное испытание с применением метода, использующего блок озоления и перегонку с водяным паром, и колориметрическое определение конечной точки титрования было организовано AOAC International в 2001 г. и проведено в соответствии с [3]. В этом испытании участвовали 13 лабораторий из Северной Америки и Европы. Были исследованы четырнадцать обезличенных проб, включая мясо-костную муку, корм для собак, корм для шиншилл, семена для птиц, сою, кукурузный силос, травяную сечку, травяное сено, люцерновое сено, заменитель молока, альбумин, гранулированный корм для свиней, семена подсолнечника, белковый брикет (с мочевиной) и рыбную муку. Результаты испытаний приведены в таблице А.1.

Извлечение азота из стандартных веществ составляло 100,1 % для ацетанилида и 98,8 % для триптофана.

Второе межлабораторное испытание с применением колориметрического определения конечной точки титрования было организовано в Таиланде в 2004 г. и проведено в соответствии с [3] с участием 26 лабораторий, представляющих правительственные организации и государственный сектор экономики. Было испытано семь проб. Результаты испытаний приведены в таблице А.2

Таблица А.1 — Результаты первого межлабораторного испытания

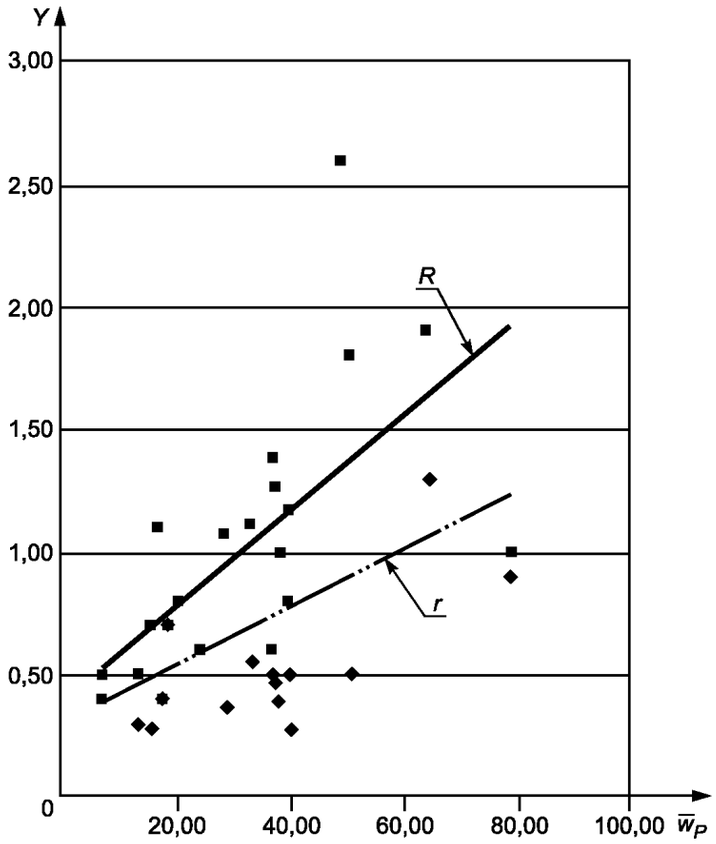
Параметр	Проба													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Белковый брикет	Гранулированный корм для свиней	Кукурузный силос	Сено из травы	Рыбная мука	Корм для собак	Корм для шиншил	Альбумин	Семена для птиц	Мясо-костная мука	Заменитель молока	Соя	Семена подсолнечника	Сено из бобовых растений
Число лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	11	11	13	12	12	12	10	11	12	12	12	11	12	12
Среднее значение массовой доли сырого протеина w_p, % (в состоянии на момент поставки)	40,20	37,00	7,10	7,10	64,60	24,50	18,10	79,10	13,50	50,10	20,80	38,80	17,40	18,80
Среднее квадратическое отклонение повторяемости s_r, % сырого протеина	0,20	0,20	0,20	0,10	0,50	0,20	0,20	0,30	0,10	0,90	0,30	0,40	0,40	0,30
Коэффициент вариации повторяемости, %	0,40	0,50	1,90	1,90	0,70	0,80	0,80	0,40	0,80	1,80	1,30	0,90	2,30	1,40
Предел повторяемости r (= 2,8 s_r), % сырого протеина	0,50	0,50	0,40	0,40	1,30	0,60	0,40	0,90	0,30	2,60	0,80	1,00	1,10	0,70
Значение Хорrата, HorRat [a]	0,3	0,3	1,0	1,0	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	1,3	0,8	0,6	1,3	0,8
Среднее квадратическое отклонение воспроизводимости s_R, % сырого протеина	0,30	0,20	0,20	0,10	0,70	0,20	0,20	0,40	0,20		0,30	0,40	0,40	0,30
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	0,70	0,60	2,70	1,90	1,00	0,90	0,80	0,50	1,30	1,80	1,30	1,00	2,30	1,40
Предел воспроизводимости R (= 2,8s_R), % сырого протеина	0,80	0,60	0,50	0,40	1,90	0,60	0,40	1,00	0,50	2,60	0,80	1,00	1,10	0,70
Значение Хорrата, HorRat [a]	0,3	0,2	0,9	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,5	0,8	0,5	0,4	0,9	0,5

[a] Значение Хорrата, равное 1, обычно указывает на удовлетворительную прецизионность, в то время как значение более 2 указывает на неудовлетворительную прецизионность, т.е. на прецизионность, которая очень изменчива для большинства аналитических целей, или когда полученная вариация больше ожидаемой для определенного типа используемого метода [9], [10].

Таблица А.2 — Результаты второго межлабораторного испытания

Параметр	Проба[a]						
	1 Корм для рыб, мелкие обогащенные гранулы (экструдированные)	2 Корм для рыб, крупные обогащенные гранулы (экструдированные)	3 Корм для креветок, порошок	4 Корм для креветок, крупные обогащенные гранулы	5 Корм для креветок, мелкие обогащенные гранулы	6 Корм для личинок, хлопья	7 Зерно пшеницы
Число лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	24	24	24	25	26	26	25
Среднее значение массовой доли сырого протеина $\overline{w}_P$, % (в состоянии на момент поставки)	33,65	29,18	40,48	37,73	38,04	51,07	15,76
Среднее квадратическое отклонение повторяемости s_r, % сырого протеина	0,20	0,13	0,10	0,17	0,14	0,18	0,10
Коэффициент вариации повторяемости, %	0,58	0,44	0,24	0,44	0,37	0,35	0,63
Предел повторяемости r (= 2,8 s_r), % сырого протеина	0,55	0,36	0,28	0,46	0,39	0,50	0,28
Значение Хорrата, HorRat	0,38	0,28	0,16	0,29	0,24	0,24	0,36
Среднее квадратическое отклонение воспроизводимости s_R, % сырого протеина	0,40	0,38	0,42	0,40	0,45	0,64	0,25
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	1,18	1,31	1,03	1,31	1,18	1,26	1,50
Предел воспроизводимости R (= 2,8s_R), % сырого протеина	1,11	1,07	1,17	1,38	1,26	1,80	0,70
Значение Хорrата, HorRat	0,50	0,54	0,45	0,56	0,51	0,57	0,60

[a] Метод отбора проб по [5].



$\overline{w}_P$ — среднее значение массовой доли сырого протеина, %; Y — параметры прецизионности, %;
r — предел повторяемости, $r = 0{,}005\ \overline{w}_P + 0{,}234$; R — предел воспроизводимости, $R = 0{,}029\ \overline{w}_P + 0{,}193$

Рисунок А.1 — Соотношение между параметрами прецизионности (r, R) и средним значением массовой доли сырого протеина $\overline{w}_P$

Приложение В
(справочное)

Результаты квалификационного испытания; сравнение результатов определения конечной точки при колориметрическом и потенциометрическом титровании

При проведении в Нидерландах квалификационного испытания, организованного лабораторией Kwaliteitsdienst Landbouwkundige Laboratoria (KDLL), для различных типов кормов использовалось как потенциометрическое, так и колориметрическое определение конечной точки титрования. Результаты, представленные в таблице В.1, показывают, что оба метода определения конечной точки дают эквивалентные результаты.

Таблица В.1 — Статистическая оценка квалификационного испытания

Параметр	Проба					
	1 Корм для кошек	2 Корм для кошек	3 Кукуруза	4 Кукуруза	5 Соевый экспеллерный жмых	6 Корм для свиней
Колориметрическое определение						
Среднее значение массовой доли сырого протеина $\overline{w}_{P,col}$, %	29,8	29,7	9,2	9,2	42,2	16,0
Среднее квадратическое отклонение массовой доли s_{col}, %	0,38	0,33	0,17	0,13	0,63	0,24
Число лабораторий, N_{col}	24	24	25	25	25	22
Потенциометрическое определение						
Среднее значение массовой доли сырого протеина $\overline{w}_{P,pot}$, %	29,9	29,9	9,3	9,2	42,3	16,0
Среднее квадратическое отклонение массовой доли s_{pot}, %	0,25	0,43	0,13	0,15	0,60	0,21
Число лабораторий, N_{pot}	14	14	14	14	15	15
F-тест для определения равенства дисперсий						
F	2,28	1,65	1,76	1,30	1,11	1,39
F_{crit}	2,43	2,18	2,42	2,15	2,35	2,38
Заключение	несущественное различие					
t-тест для определения равенства средних значений (двух выборок)						
t_{stat}	0,94	1,40	0,48	0,85	0,55	0,12
t_{crit}	2,03	2,03	2,03	2,03	2,02	2,03
Заключение	несущественное различие					

Примечание — Уровень значимости равен 5 %; при F менее F_{crit} — несущественное различие; при t_{stat} менее t_{crit} — несущественное различие.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 1871	—	*
ISO 6498:1998	MOD	ГОСТ 31218—2003 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб»
ISO 6498:2012	IDT	ГОСТ ISO 6498—2014 «Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний»

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.

Примечание — В настоящей таблице использованы условные обозначения степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичные стандарты;
- MOD — модифицированные стандарты.

Библиография

[1] ISO 385:2005, Laboratory glassware — Burettes (Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки)

[2] ISO 5725-1, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions. (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения)

[3] ISO 5725-2, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения)

[4] ISO 5983-1, Animal feeding stuffs — Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content — Part 1: Kjeldahl method (Корма для животных. Определение содержания азота и расчет содержания сырого протеина. Часть 1. Метод Кьельдаля)

[5] ISO 6497, Animal feeding stuffs — Sampling (Корма для животных. Отбор проб)

[6] ISO 8655-2, Piston-operated volumetric apparatus — Part 2: Piston pipettes (Устройства мерные, приводимые в действие поршнем. Часть 2. Пипетки, приводимые в действие поршнем)

[7] ISO 8655-3, Piston-operated volumetric apparatus — Part 3: Piston burettes (Устройства мерные, приводимые в действие поршнем. Часть 3. Бюретки, приводимые в действие поршнем)

[8] ISO 8655-5, Piston-operated volumetric apparatus — Part 5: Dispensers (Устройства мерные, приводимые в действие поршнем. Часть 5. Раздаточные устройства)

[9] Thiex, N.J., Manson, H., Anderson, S., Persson, J.A. Determination of crude protein in animal feed, forage, grain and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: Collaborative study. J. AOAC Int. 2002, 85, pp. 309—317

[10] Horwitz, W. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. Anal. Chem. 1982, 54, pp. 67A—76A

[11] Peeler, J.T., Horwitz, W., Albert, R. Precision parameters of standard methods of analysis for dairy products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1989, 72, pp. 784—806

УДК 636.085.3:006.35 МКС 65.120 IDT

Ключевые слова: корма для животных, комбикорма, комбикормовое сырье, испытание, навеска, содержание, массовая доля, азот, протеин, озоление, отгонка, колориметрическое титрование, потенциометрическое титрование

Редактор *Н.Н. Мигунова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 27.10.2016. Подписано в печать 06.12.2016. Формат 60 ×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,53. Тираж 36 экз. Зак. 3034.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru