ГОСТ Р 51417—99
(ИСО 5983:1997)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина. Метод Къельдаля

Издание официальное

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Временным творческим коллективом, образованным в рамках договора № М98 42 002 Е 4075 между АФНОР и ВНИЦСМВ с участием членов Технического комитета по стандартизации ТК 4 «Комбикорма, БВД, премиксы»

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 4 «Комбикорма, БВД, премиксы»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 572-ст

3 Настоящий стандарт за исключением 2, 5.1, 6 представляет собой аутентичный текст международного стандарта ИСО 5983—97 «Корма для животных. Определение содержания азота и вычисление содержания сырого протеина. Метод Къельдаля»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ИЗДАНИЕ (июль 2002 г.) с Поправкой (ИУС 4—2002)

© ИПК Издательство стандартов, 2000
© ИПК Издательство стандартов, 2002

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

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина. Метод Къельдаля

Feeds, mixed feeds and raw material.
Determination of mass fraction of nitrogen and calculation of mass fraction of crude protein.
Kjeldahl method

Дата введения 2001—01—01

1 Область распространения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания азота и метод вычисления содержания сырого протеина в кормах, комбикормах и комбикормовом сырье методом Къельдаля.

Примечание — В некоторых случаях этим методом невозможно полное обнаружение нитратов и нитритов.

2 Нормативные ссылки

ГОСТ 13496.0—80* Комбикорма, сырье. Методы отбора проб

ГОСТ Р 51419—99 (ИСО 6498—98) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб

3 Сущность метода

Разрушение органического вещества серной кислотой в присутствии катализатора. Высвобождение продукта реакции щелочью, затем отгонка и титрование выделяющегося аммония. Вычисление содержания азота. Умножение результата на коэффициент 6,25, чтобы получить содержание сырого протеина.

4 Реактивы и материалы

Используют реактивы квалификации х.ч., ч.д.а., дистиллированную или деионизированную воду.

Реактивы (за исключением стандартных веществ (4.6)) должны быть практически свободны от азотсодержащих соединений.

4.1 Калий сернокислый.

4.2 Катализаторы: оксид меди (II) (CuO) или 5-водная сернокислая медь (II) ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).

4.3 Серная кислота, молярной концентрации $c(H_2SO_4)$ = 18 моль/дм^3, $\rho(H_2SO_4)$ = 1,84 г/см^3.

4.4 Парафиновая смола.

4.5 Сахароза.

4.6 Стандартные вещества:

Ацетанилид, точка плавления 114 °С; содержание азота (N) 103,6 г/кг или триптофан, точка плавления 282 °С; содержание азота (N) 137,2 г/кг.

Перед использованием триптофан высушивают.

---

* Действует до введения в действие ГОСТ Р, разработанного на основе ИСО 6497 [1].

Издание официальное

4.7 Раствор гидроокиси натрия массовой долей 33 %.

4.8 Поглощающие жидкости:

Серная кислота, стандарт-титр, молярной концентрации $c(H_2SO_4)$ = 0,05 моль/дм^3 или $c(H_2SO_4)$ = 0,125 моль/дм^3.

Борная кислота массовой концентрации $\rho(H_3BO_3)$ = 40 г/дм^3.

4.9 Растворы для титрования:

Гидроокись натрия, стандарт-титр, молярной концентрации $c(NaOH)$ = 0,1 моль/дм^3 или $c(NaOH)$ = 0,25 моль/дм^3.

Серная кислота, стандарт-титр, молярной концентрации $c(H_2SO_4)$ = 0,05 моль/дм^3 или $c(H_2SO_4)$ = 0,125 моль/дм^3.

4.10 Смешанный индикатор, интервал перехода при pH 4,4 до 5,8.

Растворяют 2 г метилового красного и 1 г метиленового голубого в 1000 см^3 95 %-ного этанола.

4.11 Лакмусовая бумага

4.12 Вещества, предотвращающие выбрасывание жидкости (кусочки пемзы, стеклянные шарики диаметром от 5 до 7 мм или стружки карборунда, промытые соляной кислотой и дистиллированной водой и прокаленные).

5 Средства контроля

Используют обычную лабораторную аппаратуру.

5.1 Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

5.2 Установки для сжигания, отгонки и титрования.

6 Отбор проб

Важно, чтобы в лабораторию поступала представительная проба без повреждений и изменений при транспортировке или хранении.

Отбор проб по ГОСТ 13496.0.

Пробы хранят в условиях, не допускающих порчу и изменение состава.

7 Подготовка испытуемых проб

Подготовка испытуемых проб — по ГОСТ Р 51419.

8 Проведение испытания

8.1 Взятие навески

На весах второго класса точности берут навеску пробы, содержащую азот от 0,005 до 2 г.

Масса навески однородных воздушно-сухих проб должна быть от 0,5 до 2,0 г, масса навески влажных и (или) неоднородных проб должна быть от 2,5 до 5,0 г.

8.2 Определение

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ. Последующие операции должны проводиться под хорошо вентилируемым колпаком или в вытяжном шкафу, устойчивых к серной кислоте.

8.2.1 Разложение органического вещества

Навеску пробы количественно переносят в колбу Къельдаля соответствующей вместимости (обычно 800 см^3). Добавляют 15 г сернокислого калия и катализатор: 0,3 г оксида меди (II) или от 0,9 до 1,2 г 5-водной сернокислой меди. Добавляют 25 см^3 серной кислоты для первого грамма сухого вещества навески и от 6 до 12 см^3 для каждого дополнительного грамма сухого вещества. Тщательно перемешивают, чтобы полностью смочить навеску.

Колбу устанавливают наклонно под углом 30—45 ° к вертикали. Во время нагревания колба должна находиться в этом положении.

Сначала колбу нагревают умеренно, чтобы предотвратить поднятие пены до горла колбы или ее выбрасывание из колбы.

Примечания

1 Желательно добавить антипенообразующее вещество, как например, парафиновая смола.

2 Блок для сжигания является аппаратом, обеспечивающим равномерное нагревание разлагаемой смеси.

Нагревают умеренно, поворачивая колбу время от времени, до тех пор, пока масса не обуглится и не исчезнет пена. Затем нагревание усиливают, пока не установится равномерное кипение.

Нагрев является достаточным, если кипящая кислота конденсируется в середине колбы Къельдаля.

Следует избегать перегрева стенок колбы, не находящихся в контакте с жидкостью.

Если используется открытое пламя, такой перегрев можно предотвратить путем установления колбы на лист жаростойкого материала с отверстием диаметром немного меньшим, чем диаметр колбы на уровне жидкости.

После осветления жидкости до светлого зеленовато-голубого цвета колбу нагревают еще в течение 2 ч. Оставляют остывать. Если минерализат начинает застывать, добавляют немного дистиллированной воды и перемешивают круговыми движениями.

8.2.2 Отгонка аммиака

8.2.2.1 Осторожно добавляют в колбу от 250 до 300 $см^3$ дистиллированной воды для полного растворения сульфатов. Если это требуется, ускоряют растворение путем нагревания колбы в теплой воде. Перемешивают круговыми движениями и оставляют остывать. Затем добавляют немного вещества, предотвращающего выбрасывание.

Примечание — У некоторых специфичных образцов сульфаты могут не раствориться полностью в дистиллированной воде. В этом случае рекомендуется повторить сжигание с использованием меньшей массы сульфата калия.

8.2.2.2 Пипеткой переносят в приемную колбу отгонного аппарата 25 $см^3$ серной кислоты (4.8.1), выбирая ее концентрацию в зависимости от ожидаемого содержания азота в навеске. Добавляют от 100 до 150 $см^3$ дистиллированной воды и несколько капель смешанного индикатора. Далее поступают в соответствии с 8.2.2.4.

8.2.2.3 При отгонке в борную кислоту в приемную колбу переносят от 100 до 250 $см^3$ борной кислоты. Добавляют несколько капель смешанного индикатора.

Примечание — Рекомендуется проводить непрерывное титрование аммония (см. 8.3.3.2) во время отгонки, так как это позволяет уточнить конец дистилляции.

8.2.2.4 Кончик трубки холодильника погружают в жидкость, содержащуюся в приемной колбе, на глубине не менее 1 см. Медленно по стенкам в отгонную колбу вводят 100 $см^3$ раствора гидроокиси натрия (4.7).

Колбу немедленно присоединяют к отгонному аппарату и нагревают с такой интенсивностью, чтобы за 30 мин собрать около 150 $см^3$ дистиллята. По истечение этого времени лакмусовой бумагой проверяют pH дистиллята на кончике трубки холодильника. Если реакция щелочная, отгонку продолжают.

Кончик трубки холодильника сразу после окончания дистилляции вынимают из жидкости, чтобы предотвратить обратное засасывание.

Если во время отгонки с использованием в качестве поглощающей жидкости серной кислоты содержимое приемной колбы становится щелочным, определение повторяют, внося соответствующие изменения.

8.2.3 Титрование

Рекомендуется проводить титрование с автоматическим установлением конца титрования, используя pH-метр. В противном случае конец дистилляции определяют по изменению цвета смешанного индикатора, добавленного в 8.2.2.

8.2.3.1 Если в качестве поглощающей жидкости использовалась серная кислота, избыток серной кислоты в приемной колбе титруют раствором гидроокиси натрия соответствующей концентрации $c(NaOH) = 0{,}1$ моль/$дм^3$ или $c(NaOH) = 0{,}25$ моль/$дм^3$ до конечной точки, определяемой на pH-метре или по изменению окраски раствора из фиолетовой в зеленую. **(Поправка).**

8.2.3.2 Если в качестве поглощающей жидкости использовалась борная кислота, аммоний титруют серной кислотой соответствующей концентрации (4.9.2) $c(H_2SO_4) = 0{,}05$ моль/$дм^3$ или $c(H_2SO_4) = 0{,}125$ моль/$дм^3$ до конца титрования, определяемого при помощи pH-метра или по изменению окраски раствора из зеленой в фиолетовую.

8.3 Холостое определение

Проводят холостое определение, используя вместо навески около 1 г сахарозы.

8.4 Контрольный анализ

Проводят контрольный анализ путем определения содержания азота в ацетанилиде или триптофане, добавляя 1 г сахарозы.

Выбор вещества для контрольного анализа зависит от того, насколько легко озоляются испытуемые пробы. Ацетанилид озоляется легко, в то время как триптофан сжигается труднее.

Обнаружение азота ацетанилида должно составлять не менее 99,5 % и триптофана — не менее 99,0 %. Максимальная разница между определениями, выполненными одновременно, не должна превышать 3 г азота в кг сухого вещества.

9 Обработка результатов

9.1 Вычисление массовой доли азота

9.1.1 Отгонка аммиака в серную кислоту

Если для поглощения аммиака при анализе испытуемой пробы и холостом определении взяты одинаковые объемы серной кислоты, массовую долю азота в испытуемой пробе W_{N1}, г/кг, вычисляют по формуле

$$W_{N1} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot c_1 \cdot M}{m}, \quad (1)$$

где V_0 — объем раствора гидроокиси натрия, использованный для титрования при холостом определении, см^3;

V_1 — объем раствора гидроокиси натрия, использованный для титрования при анализе пробы, см^3;

c_1 — концентрация раствора гидроокиси натрия, использованного для титрования, моль/дм^3;

M — молярная масса азота, г/моль (M = 14 г/моль);

m — масса навески, г.

Результат вычисляют до третьего десятичного знака и округляют до второго.

9.1.2 Отгонка аммиака в борную кислоту

Массовую долю азота в испытуемой пробе W_{N2}, г/кг, вычисляют по формуле

$$W_{N2} = \frac{(V_3 - V_2) \cdot c_2 \cdot M}{m}, \quad (2)$$

где V_2 — объем серной кислоты, использованный для титрования при холостом определении, см^3;

V_3 — объем серной кислоты, использованный для титрования при анализе пробы, см^3;

c_2 — концентрация серной кислоты, использованной для титрования, моль/дм^3;

M — молярная масса азота, г/моль (M = 14 г/моль);

m — масса навески, г.

Результат вычисляют до третьего десятичного знака и округляют до второго.

9.2 Вычисление массовой доли сырого протеина

Массовую долю сырого протеина в испытуемой пробе $W_п$, г/кг, вычисляют по формуле

$$W_п = 6{,}25\ W_N, \quad (3)$$

где W_N — массовая доля азота в испытуемой пробе (или W_{N1} или W_{N2}), г/кг.

Результат вычисляют до первого десятичного знака и округляют до целого.

10 Точность

10.1 Межлабораторный опыт

Подробности межлабораторного опыта по определению точности метода обобщены в приложении А. Значения, полученные на основании этого межлабораторного опыта, не могут быть применены к другим диапазонам концентраций и образцам с другими матрицами, чем приведенные в настоящем стандарте.

10.2 Сходимость

Абсолютная разница между результатами двух независимых единичных испытаний, полученная при использовании одного и того же метода на идентичной пробе, в той же лаборатории, тем же оператором, используя одно и то же оборудование, за короткий промежуток времени, в не более чем 5 % случаев не должна превышать норматив сходимости (r), получаемый по формуле

$$r = 2{,}28 \text{ г/кг} + 0{,}0147\ \overline{W}_п, \quad (4)$$

где r — норматив сходимости, г/кг;

$\overline{W}_п$ — среднее арифметическое двух единичных результатов определения массовой доли сырого протеина, г/кг.

10.3 Воспроизводимость

Абсолютная разница между результатами двух единичных испытаний, полученная при использовании одного и того же метода на идентичной испытуемой пробе в различных лабораториях различными операторами на разном оборудовании, в не более чем 5 % случаев не должна превышать норматив воспроизводимости (R), получаемый по формуле

$$R = 12{,}8 \text{ г/кг} + 0{,}0361\ \overline{W}_{\text{п}}, \qquad (5)$$

где R — норматив воспроизводимости, г/кг;

$\overline{W}_{\text{п}}$ — среднее арифметическое двух единичных результатов определения массовой доли сырого протеина, г/кг.

11 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать:

- информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- метод отбора проб, если он известен;
- использованный метод испытания;
- полученный результат испытания, или массовую долю азота, или массовую долю сырого протеина вместе с использованным для пересчета коэффициентом (6,25);
- если контролировалась сходимость, сослаться на конечный полученный результат;
- все детали проведения испытания, не установленные настоящим стандартом или рассматриваемые как необязательные вместе с подробностями любых случайностей, имеющими место при проведении испытания, которые могли влиять на результат(ы) испытания.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Результаты межлабораторного опыта

Межлабораторный опыт организован ИСО/ТК 34/ПК 10 «Корма для животных» в 1987 году. В этом опыте участвовало 25 лабораторий; исследовались образцы корма из клейковины зерна, комбикорма, рыбной муки, комбикормового концентрата (два вида), премикса и дрожжей.

Таблица А.1 — Статистические результаты межлабораторного опыта

Параметр	Рыбная мука	Корм из клейковины зерна	Дрожжи	Премикс	Комбикормовый концентрат	Комбикормовый концентрат	Комбикорм
Количество лабораторий, оставшихся после исключения анормальных результатов	25	25	25	25	25	25	25
Среднее значение содержания сырого протеина в сухом веществе, г/кг	704	810	456	29,8	394	474	252
Среднее квадратическое отклонение сходимости (S_r), г/кг	4,6	4,5	3,2	0,85	2,9	2,3	3,2
Относительное среднее квадратическое отклонение сходимости, %	0,65	0,55	0,71	2,85	0,75	0,50	1,26
Значение норматива сходимости (r) ($r = 2{,}8 \cdot S_r$), г/кг	12,88	12,60	8,96	2,28	8,12	6,44	8,96
Среднее квадратическое отклонение воспроизводимости (S_R), г/кг	10,6	12,9	12,5	4,3	12,4	10,3	8,2
Относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости, %	1,51	1,59	2,75	1,45	3,16	2,17	3,24
Значение норматива воспроизводимости (R) ($R = 2{,}8 \cdot S_R$), г/кг	29,68	36,12	35,00	12,04	34,72	28,84	22,96

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(справочное)

Библиография

[1] ИСО 6497 Корма для животных. Методы отбора проб

УДК 636.085.3:006.354 ОКС 65.120 С19 ОКСТУ 9709, 9209

Ключевые слова: корма, сжигание, азот, сырой протеин, метод Къельдаля, отгонка, титрование

Редактор *Т.П. Шашина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.И. Кануркина*
Компьютерная верстка *С.В. Рябовой*

Изд. лиц. № 02354 от 14.07.2000. Подписано в печать 26.08.2002. Усл.печ.л. 0,93. Уч.-изд.л. 0,73.
Тираж 138 экз. С 7118. Зак. 717.

ИПК Издательство стандартов, 107076 Москва, Колодезный пер., 14.
gost.e-ecolog.ru e-mail: gost.e-ecolog.ru
Набрано в Издательстве на ПЭВМ
Филиал ИПК Издательство стандартов — тип. "Московский печатник", 103062 Москва, Лялин пер., 6.
Плр № 080102

gost.e-ecolog.ru