
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

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ca4ba1f8-3135-400c-b79a-5662de42fa4c/iso-5983-2-2009>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R (Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер
ISO 5983-2:2009(R)

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на интегрированные шрифты и они не будут установлены на компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe – торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованные для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5983-2:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ca4ba1f8-3135-400c-b79a-5662de42fa4c/iso-5983-2-2009>



ДОКУМЕНТ ОХРАНЯЕТСЯ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2009

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	2
4 Принцип	2
5 Реактивы	2
6 Аппаратура	4
7 Отбор проб	5
8 Приготовление пробы для испытания	5
9 Методика	5
9.1 Общие положения	5
9.2 Проба для анализа	5
9.3 Определение	6
9.4 Контрольный опыт	7
9.5 Испытания на извлечение	7
10 Расчет и выражение результатов	8
10.1 Расчет	8
10.2 Расчет содержания сырого белка	9
10.3 Выражение результатов содержания сырого белка	9
11 Прецизионность	10
11.1 Межлабораторное испытание	10
11.2 Повторяемость	10
11.3 Воспроизводимость	10
12 Протокол испытания	10
Приложение А (информативное) Результаты межлабораторных испытаний	12
Приложение В (информативное) Результаты квалификационного испытания; сравнение результатов определения конечной точки при колориметрическом и потенциометрическом титровании	16
Библиография	17

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член ISO, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные организации, правительственные и неправительственные, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO непосредственно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам электротехнической стандартизации.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, приведенными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. ISO не должен нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

Международный стандарт ISO 5983-2 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 10, *Корма для животных*.

Настоящее второе издание отменяет и заменяет первое издание (ISO 5983-2:2005), которое было подвергнуто техническому пересмотру.

ISO 5983 состоит из следующих частей под общим названием *Корма для животных. Определение содержания азота и расчет содержания сырого белка*:

- *Часть 1. Метод Кьельдаля*
- *Часть 2. Метод с использованием блока для озоления и перегонки с водяным паром*

Корма для животных. Определение содержания азота и расчет содержания сырого белка.

Часть 2.

Метод с использованием блока для озоления и перегонки с водяным паром

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Использование этого стандарта может включать опасные материалы, процессы и оборудование. Настоящая часть ISO 5983 не ставит своей целью рассмотрение всех рисков для безопасности, связанных с её применением. Установление соответствующих правил по технике безопасности и охране здоровья и определение применимости регламентных ограничений перед его использованием является обязанностью пользователя данного стандарта.

1 Область применения

Настоящая часть ISO 5983 устанавливает метод определения содержания азота в кормах для животных в соответствии с методом Кьельдаля, а также метод расчета содержания сырого белка.

В стандарте рассматривается практический полумикро-экспресс-метод с использованием блока для озоления, медного катализатора и перегонки с водяным паром в борную кислоту.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ca4ba1f8-3135-400c-b79a-5662de42fa4c/iso-5983-2>
Данный метод применим для определения более 0,5 % (массовая доля) азота по Кьельдалю в кормах для скота и домашних животных, а также в сырье для них.

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

Этим методом нельзя различить белковый и небелковый азот.

ПРИМЕЧАНИЕ Если важно определить содержание небелкового азота, можно использовать соответствующий метод.

2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 1871, *Продукты пищевые и кормовые. Определение содержания азота методом Кьельдаля. Общие руководящие указания*

ISO 6498:1998, *Корма для животных. Руководящие указания по подготовке проб*¹⁾

1) Будет опубликован. (Пересмотр ISO 6498:1998)

3 Термины и определения

Применительно к данному документу используются следующие термины и определения.

3.1

содержание азота nitrogen content

массовая доля азота, определенная по методике, установленной в настоящей части ISO 5983

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

3.2

содержание сырого белка crude protein content

содержание азота (3.1) в виде массовой доли, умноженное на коэффициент 6,25

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание сырого белка выражают в виде массовой доли в процентах или граммах на килограмм.

4 Принцип

Пробу для анализа разлагают в блоке для озоления или эквивалентном аппарате. Концентрированную серную кислоту используют для превращения белкового азота в сульфат аммония при повышенной температуре кипения в результате добавления сульфата калия. Медный катализатор используется для увеличения скорости реакции. Для выделения аммиака к охлажденному продукту разложения добавляют избыток гидроксида натрия.

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 выполняют одновременно с перегонкой, а конечная точка титрования может быть также определена с помощью потенциометрической pH-системы.

Содержание азота рассчитывают исходя из количества полученного аммиака. Содержание сырого белка получают, умножая результат на переводной коэффициент 6,25.

ПРИМЕЧАНИЕ В принципе, для титрования можно также использовать серную кислоту.

5 Реактивы

При анализе используют реактивы только признанного аналитического качества, если не оговорено иначе, и 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.

Эти таблетки имеются в продаже.

Могут использоваться 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, и
- b) они не содержат солей токсичных металлов, таких как селен или ртуть.

5.2 Серная кислота (H_2SO_4), с массовой долей, по меньшей мере, 98 %, не содержащая азот (приблизительно $\rho_{20} \approx 1,84$ г/мл).

5.3 Раствор пероксида водорода, содержащий приблизительно 30 г H_2O_2 на 100 мл.

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

5.5 Раствор гидроксида натрия (NaOH), приблизительно 40 % (массовая доля), не содержащий азот (< 5 мкг N на грамм).

5.6 Растворы индикаторов.

5.6.1 Раствор метилового красного. Растворяют 100 мг метилового красного ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$) в 100 мл этанола или метанола.

5.6.2 Бромкрезоловый зеленый. Растворяют 100 мг бромкрезолового зеленого ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$) в 100 мл этанола или метанола.

5.7 Концентрированный раствор борной кислоты, $c(\text{H}_3\text{BO}_3) = 40,0$ г/л.

Растворяют 400 г борной кислоты приблизительно в 5 л - 6 л горячей воды. Перемешивают и добавляют еще горячей воды до объема приблизительно 9 л. Оставляют охлаждаться до комнатной температуры. Добавляют 70 мл раствора метилового красного (5.6.1) и 100 мл раствора бромкрезолового зеленого (5.6.2) и перемешивают. Разбавляют водой до конечного объема 10 л и хорошо перемешивают. В зависимости от используемой воды pH раствора борной кислоты может изменяться от партии к партии. Часто необходимо сделать корректировку небольшим объемом щелочи, чтобы получить положительный результат при контрольном опыте (от 0,05 мл до 0,15 мл титрованного раствора). Окраска должна становиться зеленой при добавлении 100 мл воды к 25 мл раствора борной кислоты. Если окраска все еще красная, титруют раствором NaOH концентрацией 0,1 моль/л до достижения "нейтрально-серого" цвета и рассчитывают количество щелочи, необходимое для партии объемом 10 л.

Хранят раствор, окраска которого будет красной, при комнатной температуре и защищают от воздействия света и источников паров аммиака при хранении.

5.8 Разбавленный раствор борной кислоты, $c(\text{H}_3\text{BO}_3) = 10,0$ г/л (дополнительный улавливающий раствор для титраторов, которые автоматически с началом перегонки начинают титрование).

Растворяют 100 г борной кислоты приблизительно в 5 л - 6 л горячей воды, перемешивают и добавляют еще горячей воды до объема приблизительно 9 л. Оставляют охлаждаться до комнатной температуры. Добавляют 70 мл раствора метилового красного (5.6.1) и 100 мл раствора бромкрезолового зеленого (5.6.2) и перемешивают. Разбавляют водой до конечного объема 10 л и хорошо перемешивают. В зависимости от используемой воды pH раствора борной кислоты может изменяться от партии к партии. Часто необходимо сделать корректировку небольшим объемом щелочи, чтобы получить положительный результат при контрольном опыте (от 0,05 мл до 0,15 мл титрованного раствора). Окраска должна становиться зеленой при добавлении 100 мл воды к 25 мл раствора борной кислоты. Если окраска все еще красная, титруют раствором NaOH концентрацией 0,1 моль/л до достижения "нейтрально-серого" цвета и рассчитывают количество щелочи, необходимое для партии объемом 10 л.

Хранят раствор, окраска которого будет светло-зеленой, при комнатной температуре и защищают от воздействия света и источников паров аммиака при хранении.

ПРИМЕЧАНИЕ Хорошие корректировки обычно получают при добавлении приблизительно от 3 мл до 4 мл раствора NaOH концентрацией 0,1 моль/л к 1 л борной кислоты с массовой долей 1 %.

5.9 Титрованный раствор соляной кислоты, $c(\text{HCl}) = 0,1000$ моль/л.

Могут использоваться и другие концентрации HCl или серной кислоты при условии, что внесены соответствующие поправки в расчеты. Концентрации всегда следует выражать с точностью до четвертого десятичного знака.

5.10 Сульфат аммония $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$, мин. 99,5 % (массовая доля), сертифицированной чистоты. Сушат сульфат аммония при температуре $102\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 4 ч и хранят в эксикаторе.

Массовая доля азота в процентах в сульфате аммония (при чистоте 99,5 % массовой доли) составляет 21,09.

5.11 Сульфат железа(II)-аммония $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$, сертифицированной чистоты.

Массовая доля азота в процентах в сульфате железа(II)-аммония (при чистоте 100 % массовой доли) составляет 7,145.

5.12 Стандартные вещества

Может использоваться одно из стандартных веществ, указанных в 5.12.1 и 5.12.2.

Кроме перечисленных стандартных веществ в 5.12.1 и 5.12.2, следует использовать эталонные материалы с сертифицированными значениями содержания азота по Кьельдалю и сырого белка всякий раз, когда это возможно.

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание влаги можно проверить на отдельной пробе.

5.12.1 Триптофан ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$), с точкой плавления $282\text{ }^\circ\text{C}$; содержанием азота 137,2 г/кг. Сушат триптофан перед использованием.

5.12.2 Ацетанилд ($\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$), минимальное содержание 99 % (массовая доля), содержание азота 103,6 г/кг. Не сушат в сушильном шкафу перед использованием.

5.13 Сахароза ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), с содержанием азота не выше 0,002 % (массовая доля). Не сушат в сушильном шкафу перед использованием.

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура и, в частности, следующая.

6.1 Аналитические весы, способные взвешивать с точностью до 0,1 мг, с возможностью считывания до 0,1 мг.

6.2 Блок для озоления, из алюминиевого сплава или эквивалентный блок, снабженный регулятором температуры и устройством для измерения температуры блока, способный поддерживать температуру при $420\text{ }^\circ\text{C} \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$.

6.3 Пробирки для озоления, вместимостью 250 мл, пригодные для использования в блоке для озоления (6.2).

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

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

6.6 Автоматические пипетки (дозаторы), пригодные для подачи порций объемом до 25 мл, ISO 8655-2 [6] (ISO 8655-5 [8]).

6.7 Градуированные цилиндры, вместимостью 50 мл.

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

6.9 Конические колбы, вместимостью 250 мл.

6.10 Бюретка, вместимостью 25 мл или другой подходящей вместимости, с возможностью считывания, по меньшей мере, до 0,05 мл, ISO 385^[1], класс А.

Альтернативно может использоваться автоматическая бюретка, ISO 8655-3^[7], удовлетворяющая тем же требованиям.

6.11 Автоматический титратор с pH-метром, откалиброванным в диапазоне от pH 4 до pH 7.

7 Отбор проб

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

Отбор проб не включен в метод, установленный в этой части ISO 5893. Рекомендуемый метод отбора проб приводится в ISO 6497^[5].

8 Приготовление пробы для испытания

Готовят пробу для испытания в соответствии с ISO 6498.

9 Методика

9.1 Общие положения

Обычно пробы для испытания следует анализировать партиями в соответствии с установленной методикой. Относительно общих положений по применению метода Къельдаля см. ISO 1871.

9.2 Проба для анализа

В качестве пробы для анализа взвешивают с точностью до 0,1 мг:

- a) приблизительно 1,0 г для продуктов с массовой долей белка от 3 % до 30 %;
- b) приблизительно 0,5 г для продуктов с массовой долей белка от 30 % до 80 %;
- c) приблизительно 0,3 г для продуктов с массовой долей белка свыше 80 %.

Масса пробы для анализа не должна превышать 1,2 г.

Проводят контроль качества стандартных веществ, а также контрольный опыт на реактивы для каждой партии.

9.3 Определение

9.3.1 Озоление

Переносят пробу для анализа (9.2) в пробирку для озоления (6.3) и добавляют по две таблетки катализатора (5.1) в каждую пробирку. С помощью пипетки-дозатора добавляют по 12 мл серной кислоты (5.2) в каждую пробирку. Для продуктов с высоким содержанием жира (> 10 % массовой доли жира) используют 15 мл. На этой стадии определение можно остановить и продолжить работу на следующий день.

Если происходит пенообразование, медленно добавляют от 3 мл до 5 мл пероксида водорода (5.3). Осторожно взбалтывают и оставляют до ослабления реакции. Альтернативно можно использовать несколько капель противовспенивающего агента (5.4).

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

Через 10 мин уменьшают ток воды в отсасывающем устройстве до тех пор, пока дым от кислоты не будет находиться в вытяжном шкафу. 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.

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

Выключают блок для озоления. Вынимают штатив с пробирками, которые все еще подсоединены 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.

Оставляют пробирки для охлаждения. Рекомендуется предварительно разбавить пробы вручную до начала перегонки. Осторожно, в перчатках и обеспечивая защиту глаз, добавляют в каждую пробирку по несколько миллилитров 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 мл.

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

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

ПРИМЕЧАНИЕ 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

Переносят пробирку для озоления (см. 9.3.1) в аппарат для перегонки (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 производителя по эксплуатации этого аппарата.

Помещают коническую колбу (6.9), содержащую от 25 мл до 30 мл концентрированного раствора борной кислоты (5.7), под выпускное отверстие холодильника таким образом, чтобы подающая трубка была ниже поверхности концентрированного раствора борной кислоты. Добавляют в аппарат для перегонки 50 мл раствора гидроксида натрия (5.5). Эксплуатируют аппарат для перегонки в соответствии с инструкциями производителя и отгоняют аммиак, выделенный при добавлении раствора гидроксида натрия. Собирают дистиллят в приемном растворе борной кислоты. Количество дистиллята (время перегонки с водяным паром) зависит от содержания азота в пробе. Следуют инструкциям производителя.

ПРИМЕЧАНИЕ В случае использования полуавтоматического аппарата для перегонки добавление избытка гидроксида натрия и перегонка с водяным паром происходит автоматически.

9.3.3 Титрование

9.3.3.1 Колориметрическое титрование. Титруют содержимое конической колбы (6.9) титрованным раствором соляной кислоты (5.9) с помощью бюретки (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 мл. Для облегчения визуализации 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 (5.9) с помощью надлежащим образом откалиброванного автоматического титратора с рН-метром (6.11). Конечная точка титрования достигается при рН 4,6, причем она является самой высокой точкой на кривой титрования (точка перегиба). Считывают количество использованного титрованного раствора по автоматическому титратору.

Следуют инструкциям производителя при эксплуатации специального аппарата для перегонки или аппарата для перегонки с титратором.

В случае применения автоматической системы титрования, титрование начинают сразу же после начала перегонки, и необходимо использовать разбавленный раствор борной кислоты (5.8).

9.4 Контрольный опыт

Выполняют контрольный опыт, следуя методике, описанной в 9.1 – 9.3.3, используя вместо пробы для анализа 2 мл воды и приблизительно 0,7 г сахарозы (5.13). Сохраняют запись контрольных значений. Если контрольные значения меняются, идентифицируют причину.

Необходимо, чтобы количество титрованного раствора, использованного для контрольного опыта, было всегда более 0,0 мл. Контрольные значения в пределах одной и той же лаборатории должны быть постоянны со временем.

9.5 Испытания на извлечение

9.5.1 Общие положения

Регулярно проводят испытания на извлечение для проверки точности методики и оборудования, как описано в 9.5.2 – 9.5.4.