ГОСТ 13496.22—90

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИСТИНА И МЕТИОНИНА

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

УДК 636.085.3:006.354 Группа С19

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Метод определения цистина и метионина

ГОСТ 13496.22—90

Fodder, mixed fodder and mixed fodder raw materials.
Method for determination of cistinum and metioninum

МКС 65.120
ОКСТУ 9209

Дата введения 01.01.92

Настоящий стандарт распространяется на все виды кормов, комбикормов и комбикормовое сырье и устанавливает метод определения цистина и метионина.

Метод основан на окислении цистина и метионина смесью перекиси водорода с муравьиной кислотой до цистеиновой кислоты и метионинсульфона и последующем их разделении на ионообменной хроматографической колонке после гидролиза соляной кислотой концентрации c (HCl) = = 6 моль/дм^3. Интенсивность окрашенного комплекса при реакции с нингидриновым реактивом пропорциональна содержанию аминокислоты в растворе.

Стандарт применяют в научно-исследовательских учреждениях, лабораториях агрохимической службы, республиканских и зональных лабораториях комбикормовой промышленности.

1. ОТБОР ПРОБ

Отбор проб — по ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 13979.0, ГОСТ 17681, ГОСТ 27262.

2. АППАРАТУРА

Измельчитель проб растений ИПР-2 или соломорезка марки ИСР-1.

Сушилка проб кормов СК-2 или шкаф сушильный лабораторный с погрешностью поддержания температуры не более 5 °С.

Шкаф сушильный типа СЭШ-3М или аналогичный с рабочей температурой 110 °С, максимальным перепадом температуры 2 °С и периодическим колебанием температур в рабочей зоне не более 0,5 °С.

Мельница лабораторная МРП-2.

Сито с круглыми отверстиями диаметром 1 мм.

Весы лабораторные 2-го и 3-го классов точности с пределом взвешивания 200 и 500 г по ГОСТ 24104*.

Автоклав по ГОСТ 14106.

Термоблок многопозиционный для гидролиза кормов ТМ-1.

Автоанализатор аминокислот.

Устройство для выпаривания гидролизатов УВГ-1 или баня водяная.

pH-метр.

Дозатор стеклянный вместимостью 10 см^3.

Ампулы стеклянные с перетяжкой вместимостью 20 см^3 по ГОСТ 21400.

Колбы мерные вместимостью 50, 100, 1000 см^3 по ГОСТ 1770.

Пробирки стеклянные вместимостью 20 см^3 по ГОСТ 1770.

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

Издание официальное Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1990
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2011

Пипетки градуированные вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Воронки стеклянные диаметром 2—3 см по ГОСТ 25336.

Чашки фарфоровые по ГОСТ 9147.

Бюксы стеклянные диаметром не менее 5 см по ГОСТ 25336.

Палочки стеклянные оплавленные.

Набор реактивов к автоанализатору.

Стандартные растворы аминокислот.

Кислота соляная концентрированная по ГОСТ 3118, х. ч.

Раствор соляной кислоты концентрации c (HCl) = 6 $моль/дм^3$; готовят смешиванием равных объемов концентрированной соляной кислоты и дистиллированной воды.

Натрий лимоннокислый трехзамещенный по ГОСТ 22280, х. ч. или ч. д. а.

Фенол.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч., раствор с массовой долей 50 %.

Кислота муравьиная по ГОСТ 5848, ч. д. а.

Водорода перекись по ГОСТ 10929.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 двойного перегона.

Фильтры беззольные с синей полосой по ГОСТ 12026.

Допускается использовать аппаратуру, мерную посуду и другие средства измерений, имеющие такие же или лучшие метрологические характеристики.

3. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

3.1. Подготовка проб

Среднюю пробу сена, сенажа, зеленой массы измельчают на отрезки длиной 1—3 см. Корнеплоды разрезают на пластинки (ломтики) толщиной до 0,8 см. Методом квартования выделяют часть средней пробы, масса которой после высушивания должна быть не менее 100 г. Высушивание проб проводят в сушильном шкафу при температуре 60—65 °С до воздушно-сухого состояния. После высушивания пробу размалывают на мельнице и просеивают через сито. Остаток на сите дополнительно измельчают, добавляют к просеянной части и тщательно перемешивают.

Средние пробы комбикормов, зерна, жмыхов, шротов, гранул травяной муки или витаминной муки из древесной зелени размалывают без предварительного подсушивания и просеивают через сито. Корма с содержанием жира более 10 % предварительно обезжиривают.

Подготовленные пробы хранят в стеклянной или пластмассовой банке с крышкой в сухом темном месте не более двух лет.

3.2. Приготовление окислительной смеси

Окислительную смесь готовят смешиванием перекиси водорода и муравьиной кислоты в соотношении 1:9; готовят в день проведения испытания.

3.3. Приготовление буферного раствора (2,20±0,02) ед. pH

19,6 г лимоннокислого трехзамещенного натрия растворяют в 200—300 $см^3$ дистиллированной воды, приливают 16,6 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, 1 $см^3$ фенола и доводят объем до 1 $дм^3$ в мерной колбе дистиллированной водой. Концентрацию водородных ионов контролируют на pH-метре и при необходимости корректируют раствором гидроокиси натрия с массовой долей 50 % или концентрированной соляной кислотой.

3.4. Приготовление стандартного раствора аминокислот

Готовят из основного раствора, содержащего 187 мг цистеиновой кислоты и 181 мг метионинсульфона в 100 $см^3$ раствора соляной кислоты концентрации c (HCl) = 0,1 $моль/дм^3$.

Стандартный раствор аминокислот готовят разведением 25 $см^3$ основного раствора в 100 $см^3$ раствора соляной кислоты концентрации c (HCl) = 0,1 $моль/дм^3$. 1 $см^3$ такого раствора содержит 0,47 мг цистеиновой кислоты и 0,45 кг метионинсульфона, что соответствует 2,5 мкмоль каждой кислоты в стандартном растворе, прилагаемом к автоанализаторам. Стандартный раствор хранят в герметично закрытых флаконах в холодильнике в течение нескольких лет.

Рабочий раствор аминокислот готовят разведением стандартного раствора аминокислот в буфере 2,20 ед. pH до концентрации, рекомендуемой для конкретного типа аминокислотного анализатора.

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

Навеску воздушно-сухого корма массой (100,0±0,1) мг помещают в чашку устройства для выпаривания гидролизатов УВГ-1 (или фарфоровую чашку при выпаривании на водяной бане), приливают 5 см^3 свежеприготовленной окислительной смеси и выпаривают при постоянном помешивании при температуре 60 °С. Сухой остаток количественно переносят в ампулу термоблока ТМ-1 или в пробирку с перетяжкой, используя 10 см^3 раствора соляной кислоты концентрации c (HCl) = = 6 моль/дм^3. Ампулу термоблока герметично закрывают тефлоновой крышкой и устанавливают в термоблок для гидролизата при температуре 110 °С. На блоке управления включают тумблер «Перемешивание» и устанавливают время гидролиза 4 ч.

При гидролизе в термостате ампулу запаивают в пламени газовой горелки в месте перетяжки и помещают в предварительно нагретый до температуры 110 °С сушильный шкаф на 16 ч.

При гидролизе в автоклаве содержимое количественно переносят в пробирки вместимостью 20 см^3, закрывают стеклянными колпачками или воронками для предотвращения разбрызгивания кислоты во время гидролиза и устанавливают в автоклав. Гидролиз проводят при температуре 137 °С и давлении 0,25 МПа в течение 3 ч.

После завершения гидролиза гидролизаты охлаждают до комнатной температуры, перемешивают и содержимое фильтруют через беззольный фильтр (первую порцию фильтрата для анализа не используют). 1—2 см^3 фильтрата выпаривают досуха на УВГ-1 или водяной бане и осадок растворяют в 10 см^3 буферного раствора 2,20 ед. pH. Раствор гидролизата хранят в течение месяца в холодильнике в герметично закрытых пробирках.

Испытуемый гидролизат пробы вводят автоматически или при помощи шприца в верхнюю часть колонки анализатора аминокислот. Для идентификации аминокислот и их количественного определения на колонку наносят стандартный раствор аминокислот. Порядок работы на аминоанализаторах регламентируется прилагаемой инструкцией.

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Содержание аминокислот рассчитывают по соотношению площадей пиков на хроматограмме соответствующих кислот в стандартном растворе и гидролизатах испытуемых проб.

5.1. Массу аминокислоты (X) в граммах на 1 кг воздушно-сухого вещества корма вычисляют по формуле

$$X = \frac{c \cdot S_1 \cdot V \cdot 1000}{S_2 \cdot m},$$

где c — концентрация стандартного рабочего раствора, мг/см^3;

S_1 — интегрируемая величина площади пика аминокислоты испытуемой пробы;

V — объем гидролизата, см^3;

S_2 — интегрируемая величина площади пика аминокислоты стандартного рабочего раствора;

m — масса навески пробы, мг.

Полученный результат корректируют с учетом разведения гидролизата и потери массы навески корма после обезжиривания.

Для пересчета цистеиновой кислоты и метионинсульфона в цистин и метионин используют переводные коэффициенты 0,710 и 0,023 соответственно.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений. Результаты вычисляют до третьего десятичного знака и округляют до второго десятичного знака. Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений (Δ_Σ) при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должны превышать значений:

для цистеина $\Delta_\Sigma = 0,132 + 0,058\ \overline{X}$;

для метионина $\Delta_\Sigma = 0,06 + 0,088\ \overline{X}$,

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое результатов двух параллельных определений.

Допускается проведение анализа без параллельных определений при наличии в партии испытуемых проб стандартных образцов (СО). В этом случае за результат испытания принимают резуль-

тат единичного определения, если разница между воспроизведенным и аттестованным значением содержания аминокислоты находится в пределах погрешности анализа.

5.2. Массу аминокислоты (X_1) в граммах на 1 кг сухого вещества корма вычисляют по формуле

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

где X — масса аминокислоты в испытуемой пробе воздушно-сухого корма, г/кг;

W — влажность испытуемой пробы, %.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН ВПНО «Союзсельхозхимия»

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 05.12.90 № 3052

3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

4. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер раздела
ГОСТ 1770—74	2
ГОСТ 3118—77	2
ГОСТ 4328—77	2
ГОСТ 5848—73	2
ГОСТ 6709—72	2
ГОСТ 9147—80	2
ГОСТ 10929—76	2
ГОСТ 12026—76	2
ГОСТ 13496.0—80	1
ГОСТ 13586.3—83	1
ГОСТ 13979.0—86	1
ГОСТ 17681—82	1
ГОСТ 14106—80	2
ГОСТ 21400—75	2
ГОСТ 22280—76	2
ГОСТ 24104—88	2
ГОСТ 25336—82	2
ГОСТ 27262—87	1
ГОСТ 29227—91	2

5. Ограничение срока действия снято по протоколу № 2—92 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 2—93)

6. ПЕРЕИЗДАНИЕ. Март 2011 г.

СОДЕРЖАНИЕ

ГОСТ 13496.0—80	Комбикорма, сырье. Методы отбора проб	3
ГОСТ 13496.1—98	Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания натрия и хлорида натрия	9
ГОСТ Р 52839—2007	Корма. Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации	21
ГОСТ 13496.3—92 (ИСО 6496—83)	Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения влаги	33
ГОСТ 13496.4—93	Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина	39
ГОСТ 13496.5—70	Комбикорм. Метод определения спорыньи	57
ГОСТ 13496.6—71	Комбикорм. Метод выделения микроскопических грибов	64
ГОСТ Р 52337—2005	Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности	67
ГОСТ 13496.8—72	Комбикорма. Методы определения крупности размола и содержания неразмолотых семян культурных и дикорастущих растений	85
ГОСТ 13496.9—96	Комбикорма. Методы определения металломагнитной примеси	89
ГОСТ 13496.10—74	Комбикорм. Метод определения содержания спор головневых грибов	97
ГОСТ 13496.12—98	Комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения общей кислотности	101
ГОСТ 13496.13—75	Комбикорма. Методы определения запаха, зараженности вредителями хлебных запасов	107
ГОСТ 13496.15—97	Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания сырого жира	111
ГОСТ 13496.17—95	Корма. Методы определения каротина	123
ГОСТ 13496.18—85	Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения кислотного числа жира	131
ГОСТ 13496.19—93	Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания нитратов и нитритов	139
ГОСТ 13496.20—87	Комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения остаточных количеств пестицидов	159
ГОСТ 13496.21—87	Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения лизина и триптофана	167
ГОСТ 13496.22—90	Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения цистина и метионина	179

КОМБИКОРМА

Часть 4

Корма. Комбикорма. Комбикормовое сырье. Методы анализа

БЗ 8—2010

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 20.01.2011. Подписано в печать 04.04.2011. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 21,39. Уч.-изд. л. 19,40. Тираж 350 экз. Зак. 280. Изд. № 3970/2.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в Калужской типографии стандартов, 248021 Калуга, ул. Московская, 256.