

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
51423—  
99  
(ИСО 6655—97)

---

## **КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ**

**Метод определения массовой доли  
растворимого азота после обработки пепсином  
в разведенной соляной кислоте**

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2020

## Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Творческим коллективом с участием представителей Технического комитета по стандартизации ТК 004 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 004 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 578-ст

4 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст международного стандарта ИСО 6655—97 «Корма для животных. Определение содержания растворимого азота после обработки пепсином в разведенной соляной кислоте», за исключением разделов 2, 6

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июль 2020 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))*

© ИПК Издательство стандартов, 2000

© Стандартиформ, оформление, 2020

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 Сущность метода .....   | 2 |
| 4 Реактивы .....  | 2 |
| 5 Оборудование и материалы .....                                      | 2 |
| 6 Отбор проб .....  | 2 |
| 7 Подготовка испытуемых проб .....                                    | 2 |
| 8 Проведение испытания .....  | 2 |
| 9 Обработка результатов .....   | 3 |
| 10 Точность метода .....  | 4 |
| 11 Оформление результатов испытания .....                             | 4 |
| Приложение А (обязательное) Определение активности пепсина .....      | 5 |
| Приложение Б (справочное) Результаты межлабораторного испытания ..... | 7 |
| Библиография .....  | 8 |

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

Метод определения массовой доли растворимого азота после обработки пепсином  
в разведенной соляной кислоте

Feedstuffs, compound feeds, feed raw materials. Method for determination of soluble nitrogen fraction  
of total mass after treatment with pepsin in dilute hydrochloric acid

Дата введения — 2001—01—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на корма, комбикорма и комбикормовое сырье и устанавливает метод определения массовой доли растворимого азота после обработки пепсином в разведенной соляной кислоте.

Настоящим методом определяется суммарная массовая доля белкового и небелкового азота.

### Примечания

1 Значения, получаемые настоящим методом, не связаны напрямую с показателем перевариваемости *in vivo*.

2 Если массовую долю небелкового азота нужно исключить из результата испытания, ее следует определить соответствующим методом.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 13496.0 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ Р 51417—99 (ИСО 5983—97) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина. Метод Кьельдаля<sup>1)</sup>

ГОСТ Р 51419 (ИСО 6498—98) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытываемых проб<sup>2)</sup>

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

<sup>1)</sup> Действует ГОСТ 32044.1—2012 (ISO 5983-1:2005) «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина. Часть 1. Метод Кьельдаля».

<sup>2)</sup> Действует ГОСТ ISO 6498—2014 «Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний».

### 3 Сущность метода

Инкубация пробы в растворе пепсина в разведенной соляной кислоте при 40 °С в течение 48 ч. Фильтрация суспензии и определение массовой доли азота в фильтрате или в осадке на фильтре методом Кьельдаля по ИСО 5983. В последнем случае дополнительно проводят определение массовой доли азота в пробе в соответствии с ИСО 5983.

### 4 Реактивы

Используют реактивы квалификации х. ч. или ч. д. а., во всех реактивах (за исключением стандартных материалов) должны отсутствовать азотсодержащие компоненты.

4.1 Дистиллированная или деминерализованная вода.

4.2 Разведенная соляная кислота молярной концентрации  $c(\text{HCl}) = 0,075 \text{ моль/дм}^3$ .

4.3 Пепсин активностью 2,0 единиц/мг в соответствии с определением, данным в приложении А.

4.4 Раствор пепсина в соляной кислоте активностью пепсина около 400 единиц/дм<sup>3</sup>.

Растворяют  $(0,2 \pm 0,001) \text{ г}$  пепсина в 1 дм<sup>3</sup> разведенной соляной кислоты. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

Если активность пепсина отклоняется от 2,0 единиц/мг, регулируют массу пепсина таким образом, чтобы получить раствор активностью пепсина 400 единиц/дм<sup>3</sup>.

4.5 Соляная кислота молярной концентрации  $c(\text{HCl}) = 7,5 \text{ моль/дм}^3$  ( $\rho_{20} = 1,125 \text{ г/см}^3$ ).

### 5 Оборудование и материалы

Используют обычное лабораторное оборудование.

5.1 Водяная баня или инкубатор для поддержания температуры  $(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

5.2 Колбы Кьельдаля соответствующей вместимости.

5.3 Фильтровальная бумага, быстро фильтрующая кислотостойкая.

5.4 Оборудование для перегонки и фильтрации.

### 6 Отбор проб

6.1 Отбор проб — по ГОСТ 13496.0.

Проба, получаемая лабораторией, должна быть действительно представительной и защищена от изменений своих качеств при транспортировании и хранении.

### 7 Подготовка испытуемых проб

7.1 Подготовка испытуемых проб — по ГОСТ Р 51419.

Если массовая доля жира в пробе превышает 10 %, жир экстрагируют в соответствии с ГОСТ Р 51419 и учитывают это при расчете (см. раздел 9).

### 8 Проведение испытания

#### 8.1 Взятие навески

Берут навеску подготовленной пробы массой около 2 г с точностью до 0,001 г.

#### 8.2 Инкубация

Навеску пробы помещают в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup>, добавляют 450 см<sup>3</sup> раствора пепсина, предварительно подогретого до 40 °С. Содержимое колбы перемешивают для предотвращения агломерации. Проверяют pH суспензии, которая должна быть ниже 1,7. Колбу помещают на водяную баню или в инкубатор, установленный на 40 °С, и выдерживают ее там в течение 48 ч. Содержимое колбы перемешивают через 8, 24 и 32 ч.

По истечении 48 ч в колбу вносят 15 см<sup>3</sup> соляной кислоты,  $c(\text{HCl}) = 7,5 \text{ моль/дм}^3$ , и охлаждают содержимое до 20 °С. Объем в колбе доводят водой до метки, содержимое перемешивают и фильтруют через фильтровальную бумагу. Дальнейшее испытание проводят по 8.3 или 8.4.

### 8.3 Определение массовой доли азота в фильтрате

#### 8.3.1 Минерализация

Отбирают 250 см<sup>3</sup> фильтрата и переносят его в колбу Кьельдаля. В колбу добавляют реактивы, необходимые для минерализации, как указано в ГОСТ Р 51417—99, 8.2.1. Содержимое колбы доводят до кипения.

**Примечание** — Рекомендуется внести в колбу реактив, предотвращающий пенообразование.

Содержимое колбы выпаривают при интенсивном кипении почти до полного испарения воды. Остаток воды удаляют с осторожностью, снижая интенсивность нагрева. После того как жидкость в колбе станет прозрачной, нагревание продолжают еще в течение 1 ч, затем колбу охлаждают.

#### 8.3.2 Отгонка и титрование

Отгонку аммиака и титрование проводят по ГОСТ Р 51417—99, 8.2.2 и 8.2.3.

#### 8.3.3 Контрольный опыт

Контрольный опыт проводят, выполняя те же операции с использованием тех же реактивов, за исключением навески пробы. Обработку результатов проводят в соответствии с разделом 9.

### 8.4 Определение массовой доли азота в осадке после фильтрации

#### 8.4.1 Минерализация осадка после фильтрации

Фильтр и осадок на нем промывают теплой водой до полного удаления кислоты. Фильтр с осадком переносят в колбу Кьельдаля и дальнейшее испытание проводят по 8.3.1 настоящего стандарта.

8.4.2 Отгонка и титрование — по ГОСТ Р 51417—99, 8.2.2 и 8.2.3.

#### 8.4.3 Определение массовой доли азота в пробе

Массовую долю азота в подготовленной пробе определяют в соответствии с ГОСТ Р 51417.

#### 8.4.4 Контрольный опыт

Контрольный опыт проводят, выполняя те же операции с использованием тех же реактивов, за исключением навески пробы.

## 9 Обработка результатов

### 9.1 Расчет массовой доли растворимого азота при выполнении испытания по 8.3

При условии, что для улавливания аммиака из пробы и в контрольном опыте использовались равные количества серной кислоты по ГОСТ Р 51417, массовую долю растворимого азота в пробе  $W_1$ , г/кг, рассчитывают по формуле

$$W_1 = \frac{2(V_0 - V_1)cM}{m}, \quad (1)$$

где  $V_0$  — объем раствора гидроксида натрия, пошедший на титрование в контрольном опыте, ГОСТ Р 51417, 4.9.1, см<sup>3</sup>;

$V_1$  — объем раствора гидроксида натрия, пошедший на титрование в опыте с пробой по 8.3.2, ГОСТ Р 51417, 4.9.1, см<sup>3</sup>;

$c$  — молярная концентрация раствора гидроксида натрия, использованного на титрование, ГОСТ Р 51417, 4.9.1, моль/дм<sup>3</sup>;

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

$m$  — масса навески, г.

Результат испытания округляют с точностью до 0,1 г/кг.

### 9.2 Расчет массовой доли растворимого азота при выполнении испытания по 8.4

При условии, что для улавливания аммиака из пробы и в контрольном опыте использовались равные количества серной кислоты по ГОСТ Р 51417, массовую долю растворимого азота в пробе  $W_2$ , г/кг, рассчитывают по формуле

$$W_2 = W_N - \frac{(V_0 - V_2)cM}{m}, \quad (2)$$

где  $W_N$  — массовая доля азота в пробе, определенная по 8.4.3, г/кг.

Результат испытания округляют с точностью до 0,1 г/кг.

### 9.3 Расчет массовой доли растворимого сырого протеина

Массовую долю растворимого сырого протеина рассчитывают умножением массовой доли растворимого азота на 6,25.

## 10 Точность метода

### 10.1 Межлабораторное испытание

Результаты межлабораторного испытания точности метода приведены в приложении Б. Полученные точностные характеристики применимы только для исследованных объектов в исследованном диапазоне концентраций анализируемого вещества.

### 10.2 Сходимость

Абсолютная разница между двумя независимыми единичными результатами испытаний, полученными настоящим методом на одной и той же пробе в одной лаборатории одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени, превышает значения показателя  $r$ , приведенные в таблице 1, не более чем в 5 % случаев.

### 10.3 Воспроизводимость

Абсолютная разница между двумя единичными результатами испытаний, полученными настоящим методом на одной и той же пробе в различных лабораториях различными операторами с использованием различного оборудования, превышает значения показателя  $R$ , приведенные в таблице 1, не более чем в 5 % случаев.

Таблица 1 — Пределы сходимости  $r$  и воспроизводимости  $R$

| Проба                      | Среднее значение массовой доли растворимого сырого протеина, г/кг сухого продукта | $r$ , г/кг | $R$ , г/кг |
|----------------------------|---|------------|------------|
| Мука люцерны               | 136,6   | 7,2        | 26,5       |
| Кукурузный кормовой глютен | 141,5   | 8,9        | 28,9       |
| Кокосовая мука             | 149,5   | 7,4        | 31,6       |
| Травяной силос             | 192,9   | 7,9        | 36,3       |
| Костная мука               | 512,0   | 8,9        | 63,1       |
| Перьевая мука              | 574,3   | 22,1       | 166,3      |

## 11 Оформление результатов испытания

Отчет о результатах испытания должен содержать:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;
- метод, в соответствии с которым произведен отбор проб (если известен);
- метод испытания;
- полученный результат испытания, представленный в виде содержания растворимого азота или растворимого сырого протеина (в последнем случае указывают коэффициент пересчета 6,25);
- если проверена сходимость, окончательный результат с оценкой сходимости;
- все подробности проведения испытания, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как несущественные вместе со всеми побочными обстоятельствами, которые могли влиять на результаты испытания.



## Приложение А (обязательное)

### Определение активности пепсина

#### А.1 Область распространения

Настоящее приложение устанавливает метод определения активности пепсина, используемый при определении массовой доли растворимого азота после обработки пепсином в разведенной соляной кислоте.

#### А.2 Определение

В настоящем приложении использован следующий термин с соответствующим определением:

**единица активности пепсина:** Масса пепсина, необходимая для высвобождения за одну минуту при определенных условиях того количества оксиарильных групп, которое при взаимодействии с реактивом Фолина — Сиокалто дает оптическую плотность, эквивалентную 1 мкмоль тирозина в тех же условиях.

#### А.3 Сущность метода

Обработка гемоглобина пепсином в разведенной соляной кислоте. Осаждение негидролизованной части белка трихлоруксусной кислотой. Фильтрация и добавление гидроксида натрия и реактива Фолина — Сиокалто. Измерение оптической плотности этого раствора при длине волны 750 нм и определение соответствующей массы тирозина с помощью градуировочного графика.

#### А.4 Реактивы

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

- соляную кислоту молярной концентрации  $c(\text{HCl}) = 0,2 \text{ моль/дм}^3$ ;
- соляную кислоту молярной концентрации  $c(\text{HCl}) = 0,06 \text{ моль/дм}^3$ ;
- соляную кислоту молярной концентрации  $c(\text{HCl}) = 0,025 \text{ моль/дм}^3$ ;
- раствор трихлоруксусной кислоты массовой концентрации  $c(\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}) = 50 \text{ г/дм}^3$ ;
- раствор гидроксида натрия молярной концентрации  $c(\text{NaOH}) = 0,5 \text{ моль/дм}^3$ ;
- реактив Фолина — Сиокалто.

В круглодонную колбу со шлифом вместимостью 2 дм<sup>3</sup> помещают 100 г дигидрата вольфрамата натрия ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 25 г дигидрата молибдата натрия ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) и 700 см<sup>3</sup> воды. В колбу добавляют 50 см<sup>3</sup> фосфорной кислоты,  $\rho(\text{H}_3\text{PO}_4) = 1,71 \text{ г/см}^3$  и 100 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты,  $\rho(\text{HCl}) = 1,19 \text{ г/см}^3$ . К колбе присоединяют обратный холодильник, раствор доводят до кипения и аккуратно кипятят в течение 10 ч. Затем колбу охлаждают, отсоединяют обратный холодильник, добавляют 175 г дигидрата сульфата лития ( $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 50 см<sup>3</sup> воды и 1 см<sup>3</sup> брома. Содержимое колбы кипятят в течение 15 мин для удаления избытка брома.

Колбу охлаждают, раствор декантируют в мерную колбу вместимостью 1 дм<sup>3</sup>. Объем содержимого в колбе доводят до метки дистиллированной водой, раствор перемешивают и фильтруют. Остаточная зеленоватая окраска раствора не допускается.

Перед использованием один объем реактива разводят двумя объемами воды.

Раствор гемоглобина

Берут навеску гемоглобино-протеинового субстрата около 2 г по методу Ансона, соответствующую 354 мг азота, и помещают ее в колбу со шлифом вместимостью 200 см<sup>3</sup> и отметкой на уровне 100 см<sup>3</sup>.

**Примечание** — При необходимости определяют массовую долю азота в субстрате с помощью микрометода Кельдаля. Ожидаемая массовая доля азота составляет 17,7 %.

В колбу с субстратом вносят небольшое количество разведенной соляной кислоты,  $c(\text{HCl}) = 0,06 \text{ моль/дм}^3$ , подсоединяют колбу к вакуумному насосу и перемешивают содержимое до полного растворения гемоглобина. После этого спускают вакуум и при постоянном перемешивании добавляют в колбу разведенную соляную кислоту той же молярной концентрации до отметки на уровне 100 см<sup>3</sup>.

Раствор готовят непосредственно перед использованием.

Стандартный раствор тирозина молярной концентрации  $c(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3) = 0,2 \text{ ммоль/дм}^3$

Для приготовления основного раствора в мерной колбе вместимостью 1 дм<sup>3</sup> растворяют 181,2 мг тирозина в разведенной соляной кислоте,  $c(\text{HCl}) = 0,06 \text{ моль/дм}^3$ , доводят его объем содержимого в колбе до метки.

20 см<sup>3</sup> основного раствора переносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем содержимого в колбе до метки разведенной соляной кислотой,  $c(\text{HCl}) = 0,06 \text{ моль/дм}^3$ .

Молярная концентрация тирозина в приготовленном стандартном растворе составляет 0,2 мкмоль/см<sup>3</sup> (0,2 ммоль/дм<sup>3</sup>).

#### А.5 Оборудование

Используют обычное лабораторное оборудование:

- водяную баню для поддержания температуры  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ;



- спектрофотометр для проведения измерений при длине волны 750 нм;
- хронометр для измерения времени с точностью до 1 с;
- рН-метр для измерения рН с точностью до 0,1 единицы;
- стеклянную палочку, один конец которой толще другого.

## А.6 Проведение испытания

### А.6.1 Приготовление раствора пепсина

Навеску пепсина массой 150 мг (или массу, необходимую для получения оптической плотности  $0,35 \pm 0,035$ ) растворяют в 100 см<sup>3</sup> разведенной соляной кислоты,  $c(\text{HCl}) = 0,06$  моль/дм<sup>3</sup>.

2 см<sup>3</sup> приготовленного раствора переносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объем содержимого в колбе разведенной соляной кислотой,  $c(\text{HCl}) = 0,025$  моль/дм<sup>3</sup>, до метки. Значение рН приготовленного раствора должно быть  $1,6 \pm 0,1$ .

Колбу с раствором погружают в водяную баню температурой 25 °С.

### А.6.2 Гидролиз

В пробирку с помощью пипетки переносят 5,0 см<sup>3</sup> раствора гемоглобина и нагревают на водяной бане до 25 °С. В пробирку вносят 1,0 см<sup>3</sup> раствора пепсина; содержимое пробирки перемешивают стеклянной палочкой, совершая около 10 возвратно-поступательных движений. Пробирку выдерживают на водяной бане при  $(25 \pm 1)$  °С в течение 10 мин  $\pm 1$  с, отсчитывая время с момента внесения раствора пепсина. Необходимо точно соблюдать продолжительность и температуру инкубации. По окончании инкубации в пробирку добавляют 10,0 см<sup>3</sup> раствора трихлоруксусной кислоты, предварительно подогретого до  $(25 \pm 1)$  °С, содержимое пробирки перемешивают и фильтруют через сухую фильтровальную бумагу.

### А.6.3 Проведение цветной реакции и измерение оптической плотности

5,0 см<sup>3</sup> фильтрата переносят пипеткой в коническую колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>. В колбу добавляют 10,0 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия и при постоянном перемешивании 3,0 см<sup>3</sup> разбавленного реактива Фолина — Сиокалто. Через 5—10 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 750 нм в кювете рабочей длиной 1 см. В качестве раствора сравнения используют воду.

### А.6.4 Контрольное испытание

Контрольное испытание проводят при каждом определении.

5,0 см<sup>3</sup> раствора гемоглобина переносят пипеткой в пробирку, подогревают на водяной бане до  $(25 \pm 1)$  °С, добавляют 10,0 см<sup>3</sup> раствора трихлоруксусной кислоты, предварительно подогретого до  $(25 \pm 1)$  °С. Содержимое пробирки перемешивают и вносят 1,0 см<sup>3</sup> раствора пепсина. Раствор в пробирке перемешивают стеклянной палочкой. Пробирку выдерживают на водяной бане при температуре  $(25 \pm 1)$  °С в течение 10 мин  $\pm 1$  с, после чего раствор фильтруют через сухую фильтровальную бумагу. Дальнейшее испытание выполняют по А.6.3.

### А.6.5 Построение градуировочного графика

В шесть конических колб вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 см<sup>3</sup> стандартного раствора тирозина, что соответствует 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 и 1,0 мкмоль тирозина. В колбы добавляют разведенную соляную кислоту,  $c(\text{HCl}) = 0,2$  моль/дм<sup>3</sup>, в таком количестве, чтобы объем содержимого в каждой колбе составил 5,0 см<sup>3</sup>.

В каждую колбу вносят по 10,0 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия и при постоянном перемешивании 3,0 см<sup>3</sup> разбавленного реактива Фолина — Сиокалто. Измеряют оптическую плотность растворов в соответствии с А.6.3.

Строят градуировочный график зависимости оптической плотности от массы тирозина в микромолях.

## А.7 Обработка результатов

По градуировочному графику определяют массу тирозина в микромолях, соответствующую оптической плотности окрашенного раствора, скорректированной с результатом контрольного испытания.

Активность пепсина  $a$ , мкмоль/г в минуту при  $(25 \pm 1)$  °С, рассчитывают по формуле

$$a = \frac{3,2n}{mt}, \quad (\text{А.1})$$

где  $n$  — масса тирозина, найденная по градуировочному графику, мкмоль;

$m$  — масса пепсина, взятая в А.6.1, мг;

$t$  — продолжительность реакции, мин ( $t = 10$  мин).

Примечание — Две единицы активности пепсина на миллиграмм, полученные настоящим методом, соответствуют 3,64 миллиединицам Ансона на миллиграмм (в микромолях тирозина на миллиграмм в минуту при 35,5 °С) или 36 400 коммерческим единицам на грамм (в микромолях тирозина на грамм за 10 мин при 35,5 °С).

**Приложение Б**  
**(справочное)**

**Результаты межлабораторного испытания**

Точность настоящего метода установлена в результате межлабораторного испытания, проведенного на международном уровне ИСО/ТК 34/ПК 10. В этом испытании принимали участие 19 лабораторий, каждая из которых провела по три параллельных определения шести образцов.

Таблица Б.1

| Параметр   | Мука люцерны | Кукурузный кормовой глютен | Кокосовая мука | Травяной силос | Костная мука | Перьевая мука |
|--|--------------|----------------------------|----------------|----------------|--------------|---------------|
| Количество лабораторий, оставшихся после исключения выпавших лабораторий | 17           | 18                         | 17             | 18             | 15           | 17            |
| Среднее значение массовой доли растворимого азота, г/кг сухого продукта  | 136,6        | 141,5                      | 149,5          | 192,9          | 512,0        | 574,3         |
| Стандартное отклонение сходимости $S_r$ , г/кг                           | 2,5          | 3,1                        | 2,6            | 2,8            | 3,2          | 7,8           |
| Коэффициент вариации сходимости, %                                       | 1,8          | 2,2                        | 1,7            | 1,4            | 0,6          | 1,4           |
| Предел сходимости $r$ ( $r = 2,8 S_r$ ), г/кг                            | 7,2          | 8,9                        | 7,4            | 7,9            | 8,9          | 22,1          |
| Стандартное отклонение воспроизводимости $S_R$ , г/кг                    | 9,4          | 10,2                       | 11,2           | 12,8           | 22,3         | 58,8          |
| Коэффициент вариации воспроизводимости, %                                | 6,8          | 7,2                        | 7,5            | 6,6            | 4,4          | 10,2          |
| Предел воспроизводимости $R$ ( $R = 2,8 S_R$ ), г/кг                     | 26,5         | 28,9                       | 31,6           | 36,3           | 63,1         | 166,3         |

Библиография

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

---

УДК 636.085.001.4:006.354

ОКС 65.120

Ключевые слова: корма, комбикорма, комбикормовое сырье, растворимый азот, пепсин, соляная кислота

---

Редактор переиздания *Е.И. Мосур*  
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*  
Корректор *Е.Р. Ароян*  
Компьютерная верстка *Г.В. Струковой*

Сдано в набор 27.07.2020. Подписано в печать 24.11.2020. Формат 60 × 84<sup>1/8</sup>. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.  
[www.jurisizdat.ru](http://www.jurisizdat.ru) [y-book@mail.ru](mailto:y-book@mail.ru)

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»  
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,  
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)