



НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

/

КОРМИ ДЛЯ ТВАРИН

Метод визначення розщеплення *in vitro*

ДСТУ 7964:2015

Видання офіційне

Київ
ДП «УкрНДНЦ»
2017

ПЕРЕДМОВА

1 РОЗРОБЛЕНО: Інститут тваринництва НААН

РОЗРОБНИКИ: **Б. Газієв**, канд. біол. наук (науковий керівник); **М. Косов**; **А. Креньов**

2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ ДП «УкрНДНЦ» від 22 червня 2015 р. № 61 з 2017–01–01

3 УВЕДЕНО ВПЕРШЕ (зі скасуванням в Україні чинності ГОСТ 24230–80)

Право власності на цей національний стандарт належить державі.
Заборонено повністю чи частково видавати, відтворювати
зادля розповсюдження і розповсюджувати як офіційне видання
цей національний стандарт або його частини на будь-яких носіях інформації
без дозволу ДП «УкрНДНЦ» чи уповноваженої ним особи

ЗМІСТ

	с.
1 Сфера застосування	1
2 Нормативні посилання	1
3 Загальні положення	2
4 Засоби та допоміжні пристрої	2
5 Правила готування до проведення досліджень	2
5.1 Готування проби для дослідження	2
5.2 Готування розчинів	2
5.3 Визначення активності целюлази	3
6 Відбирання проб	3
7 Методика та правила проведення дослідження	4
8 Правила опрацювання результатів	4
9 Правила оформлювання результатів	4
10 Вимоги щодо безпеки	4
11 Вимоги щодо охорони довкілля	4
Додаток А Орієнтовна калібрувальна крива на прикладі коефіцієнтів розщеплення злако-бобового сіна	5

НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

КОРМИ ДЛЯ ТВАРИН

Метод визначення розщеплення *in vitro*

КОРМА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Метод определения расщепляемости *in vitro*

FEEDS FOR AGRICULTURAL ANIMALS

In vitro degradability determinations method

Чинний від 2017-01-01

1 СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Цей стандарт поширюється на всі види рослинних кормів і комбікорми для сільськогосподарських тварин. Стандарт регламентує метод визначення розщеплення *in vitro* сухої речовини кормів і комбікормів за допомогою ферментних препаратів.

2 НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

У цьому стандарті є посилання на такі нормативні документи:

ДСТУ ГОСТ 908:2006 Кислота лимонна моногідрат харчова. Технічні умови

ДСТУ ISO 6497:2005 Корми для тварин. Методи відбирання проб

ДСТУ ISO 6498:2005 Корми для тварин. Готування проб для дослідження

ГОСТ 12.1.030–81 ССБТ. Электробезопасность. Защитное заземление, зануление (ССБП. Електробезпека. Захисне уземлення, занулення)

ГОСТ 17.2.3.02–78 Охрана природы. Атмосфера. Правила установления допустимых выбросов вредных веществ промышленными предприятиями (Охорона природи. Атмосфера. Правила встановлення допустимих норм викидів шкідливих речовин промисловими підприємствами)

ГОСТ 1770–74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия (Посуд мірний лабораторний скляний. Циліндри, мензурки, колби, пробірки. Загальні технічні умови)

ГОСТ 3118–77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия (Реактивы. Кислота соляная. Технічні умови)

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия (Вода дистильована. Технічні умови)

ГОСТ 13496.0–80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб (Комбікорми, сировина. Методи відбирання проб)

ГОСТ 25336–82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры (Посуд та обладнання лабораторні скляні. Типи, основні параметри і розміри)

ГОСТ 27262–87 Корма растительного происхождения. Методы отбора проб (Корми рослинного походження. Методи відбирання проб)

ГОСТ 27668–88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб (Борошно і відвійки. Приймання і методи відбирання проб)

ГОСТ 29227–91 (ИСО 835-1–81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования (Посуд лабораторний скляний. Піпетки градуйовані. Частина 1. Загальні вимоги)

ДСП 201–97 Державні санітарні норми по охороні атмосферного повітря населених пунктів (від забруднення хімічними та біологічними речовинами)

СанПин 4630–88 Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения (Санітарні правила і норми охорони поверхневих вод від забруднення)

Державні санітарні норми та правила утримання територій населених місць.

3 ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Суху речовину зразків кормів розщеплюють поетапно, солянокислим пепсином і цитрат-фосфатною целюлазою. Після цього висушують нерозщеплений залишок. Кінцевим етапом визначення є обчислювання коефіцієнта розщеплення сухої речовини.

4 ЗАСОБИ ТА ДОПОМІЖНІ ПРИСТРОЇ

4.1 Дозволено використовувати лише реактиви, марка і ступінь очищення яких сприяє якісному проведенню досліджень:

- **дистильована вода**, що відповідає щонайменше класу 3 — згідно з ГОСТ 6709;
- **пепсин медичний** — згідно з чинною нормативною документацією;
- **фермент целюлаза** (целокандин, целовіридин), активність не менше ніж 100 од;
- **соляна кислота** — згідно з ГОСТ 3118;
- **лимоннова кислота** — згідно з ДСТУ ГОСТ 908;
- **натрій кислий ортофосфорнокислий однозамінений** — згідно з чинною нормативною документацією.

4.2 Дозволено використовувати устаткування, мірний посуд та інші засоби вимірювання, зокрема такі:

- **подрібнювач проб рослин**;
- **соломорізка**;
- **млинок лабораторний**, що забезпечує величину подрібнення корму до часток 1 мм³;
- **терези лабораторні загальної призначеності** — з найбільшою межею зважування від 200 г до 500 г;
- **сито металеве штамповане з чарунками діаметром 1 мм**;
- **термостат біологічний** із температурою нагрівання від 38 °С до 40 °С — згідно з чинною нормативною документацією;
- **насос водострумний лабораторний** — згідно з чинним нормативним документом;
- **шафа сушильна лабораторна** — згідно з чинним нормативним документом або іншого типу, що забезпечує температуру нагрівання від 100 °С до 200 °С;
- **піпетка автоматична** місткістю 50 мм³ — згідно з ГОСТ 29227 (ISO 835-1);
- **пробірки центрофугальні** місткістю 100 мм³ — згідно з ГОСТ 1770;
- **ексикатор**, який містить ефективний десикант — згідно з ГОСТ 25336;
- **штативи металеві з гніздами для пробірок** — згідно з чинною нормативною документацією.

5 ПРАВИЛА ГОТУВАННЯ ДО ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

5.1 Готування проби для дослідження

Готують пробу для випробування згідно з ДСТУ ISO 6498, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 27262 та ГОСТ 27668.

5.2 Готування розчинів

5.2.1 Розчин пепсину, 0,2 %: 2 г пепсину розчиняють в 1 дм³ 0,1 N соляної кислоти.

5.2.2 Розчин лимонної кислоти 0,1 M: 21,008 г лимонної кислоти розчиняють в 1 дм³ дистильованої води.

5.2.3 Розчин кислої ортофосфорнокислої натрію 0,2 M: 35,52 г натрію кислої ортофосфорнокислої розчиняють в 1 дм³ дистильованої води.

5.2.4 Розчин цитрат-фосфатний буферний із рН 4,6: 10,65 мм³ 0,1 M розчину лимонної кислоти змішують із 9,35 мм³ 0,2 M розчину натрію кислої ортофосфорнокислої.

5.2.5 Розчин целюлази: 5 г целокандину розчиняють в 1дм³ цитрат-фосфатного буфера. Усі реактиви зважують із точністю ± 0,001 г.

5.3 Визначення активності целюлази

Для визначення активності целюлази готують стандартний розчин: 5 г целокандину (целовіридину) розчиняють у 100 мм³ цитрат-фосфатного буфера, отримуючи таким чином в 1 мм³ розчину 50 мг ферменту. В 10 попередньо висушених до постійної маси пробірок вміщують по 200 мг корму відомої перетравності, значення якої визначено в дослідях на тваринах (in vitro), приливають у кожен з них відповідну кількість стандартного розчину і цитрат-фосфатного буфера, як показано у таблиці 1.

Таблиця 1 — Визначення активності целюлази

Номер пробірки	Кількість стандартного розчину, мм ³	Кількість цитрат-фосфатного буфера, мм ³	Вміст (активність) ферменту	Розщеплення корму, %
1	1	19	50	
2	2	18	100	
3	3	17	150	
4	4	16	200	
5	5	15	250	
6	6	14	300	
7	7	13	350	
8	8	12	400	
9	9	11	450	
10	10	10	500	

Пробірки закривають пробками, ставлять до біологічного термостата і витримують протягом 24 год за температури від 38 °С до 40 °С. Після цього надосадкову рідину відсмоктують водоструминним насосом, а пробірки із залишками нерозщепленого корму висушують у сушильній шафі за температури від 100 °С до 105 °С до постійної маси. Розщеплення корму в кожній пробірці визначають за формулою:

$$P_{\text{ср}} = \frac{\left[m \left(\frac{100 - m_2}{100} \right) - m_1 \right] \cdot 100}{m \left(\frac{100 - m_2}{100} \right)}, \quad (1)$$

де $P_{\text{ср}}$ — розщеплення сухої речовини, %;

m — маса наважки корму, мг;

m_1 — маса висушеного нерозщепленого залишку корму, мг;

m_2 — масова частка гігроскопічної вологи в кормах, %.

На підставі отриманих даних про розщеплення корму будують калібрувальну криву згідно з додатком А.

Оптимальною вважають ту дозу ферменту, збільшення якої не сприяє до подальшого підвищення (більше ніж на 5 %) розщеплення корму.

6 ВІДБИРАННЯ ПРОБ

Рекомендовані методи відбирання проб подано в ДСТУ ISO 6497, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 27262 та ГОСТ 27668.

Потрібно, щоб лабораторія одержувала зразок, який є справді типовим і не був пошкоджений чи змінений під час транспортування або зберігання.

У подальшому зразок зберігають так, щоб не допустити погіршення і зміни його фізичної структури і хімічного складу.

7 МЕТОДИКА ТА ПРАВИЛА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ

Наважки подрібненого повітряно-сухого корму масою близько 500 мг зважують із похибкою не більше ніж 0,001 г, потім вміщують до пробірок попередньо висушені до постійної маси, додають 50 мм³ 0,1 Н розчину солянокислого пепсину, закривають пробками і витримують у біологічному термостаті протягом 24 год за температури від 38 °С до 40 °С. Після цього надосадкову рідину відсмоктують водоструминним насосом із фільтрувальною трубкою.

До залишку в пробірках додають 50 мм³ целюлази й знову витримують у біологічному термостаті протягом 48 год за температури від 38 °С до 40 °С. Періодично (3—4 рази на день) вміст пробірок струшують як на першому, так і другому етапах розщеплення так, щоб частки корму не залишалися на стінках пробірок. Після закінчення другого етапу розщеплення надосадкову рідину відсмоктують, промивають нерозщеплений залишок дистильованою водою і знову відсмоктують надосадкову рідину водоструминним насосом із фільтрувальною трубкою. Пробірки з нерозщепленим та промитим залишком вміщують до сушильної шафи, висушують за температури від 100 °С до 105 °С до постійної маси і після охолодження в ексикаторі зважують із похибкою не більше ніж $\pm 0,001$ г. Вимірюють температуру контактними термометрами з допустимою похибкою $\pm (1—2)$ °С.

8 ПРАВИЛА ОПРАЦЬОВУВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Розщеплення сухої речовини корму *in vitro* у відсотках розраховують за формулою 1.

За кінцевий результат випробування приймають середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень.

Допустимі розбіжності між результатами двох паралельних визначень не повинні перевищувати 3 %, а між лабораторіями — 5 %.

Результати розраховують до третього десяткового знака й округлюють до другого десяткового знака.

9 ПРАВИЛА ОФОРМЛЮВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати випробування заносять до лабораторного журналу і/або оформляють акт експертизи (протокол дослідження), де зазначають коефіцієнти (показники) розщеплення кожного зразка у двох паралельних визначеннях за кожним кормом окремо.

10 ВИМОГИ ЩОДО БЕЗПЕКИ

Усі роботи, пов'язані з готуванням розчинів, проводять у витяжній шафі. Необхідно дотримуватися вимог щодо безпеки під час роботи з електроприладами. Усі електроприлади мають бути уземлені відповідно до вимог ГОСТ 12.1.030.

11 ВИМОГИ ЩОДО ОХОРОНИ ДОВКІЛЛЯ

11.1 Контроль дотримання норм викидів шкідливих речовин в атмосферу здійснюють відповідно до вимог ГОСТ 17.2.3.02 і ДСП 201.

11.2 Охорону ґрунту від забруднювання побутовими і виробничими відходами здійснюють відповідно до вимог «Державних санітарних норм та правил утримання територій населених місць».

11.3 Стічні води потрібно очищувати відповідно до вимог СанПіН 4630.

ДОДАТОК А
(довідковий)

**ОРІЄНТОВНА КАЛІБРУВАЛЬНА КРИВА
НА ПРИКЛАДІ КОЕФІЦІЄНТІВ РОЗЩЕПЛЕННЯ
ЗЛАКО-БОБОВОГО СІНА**

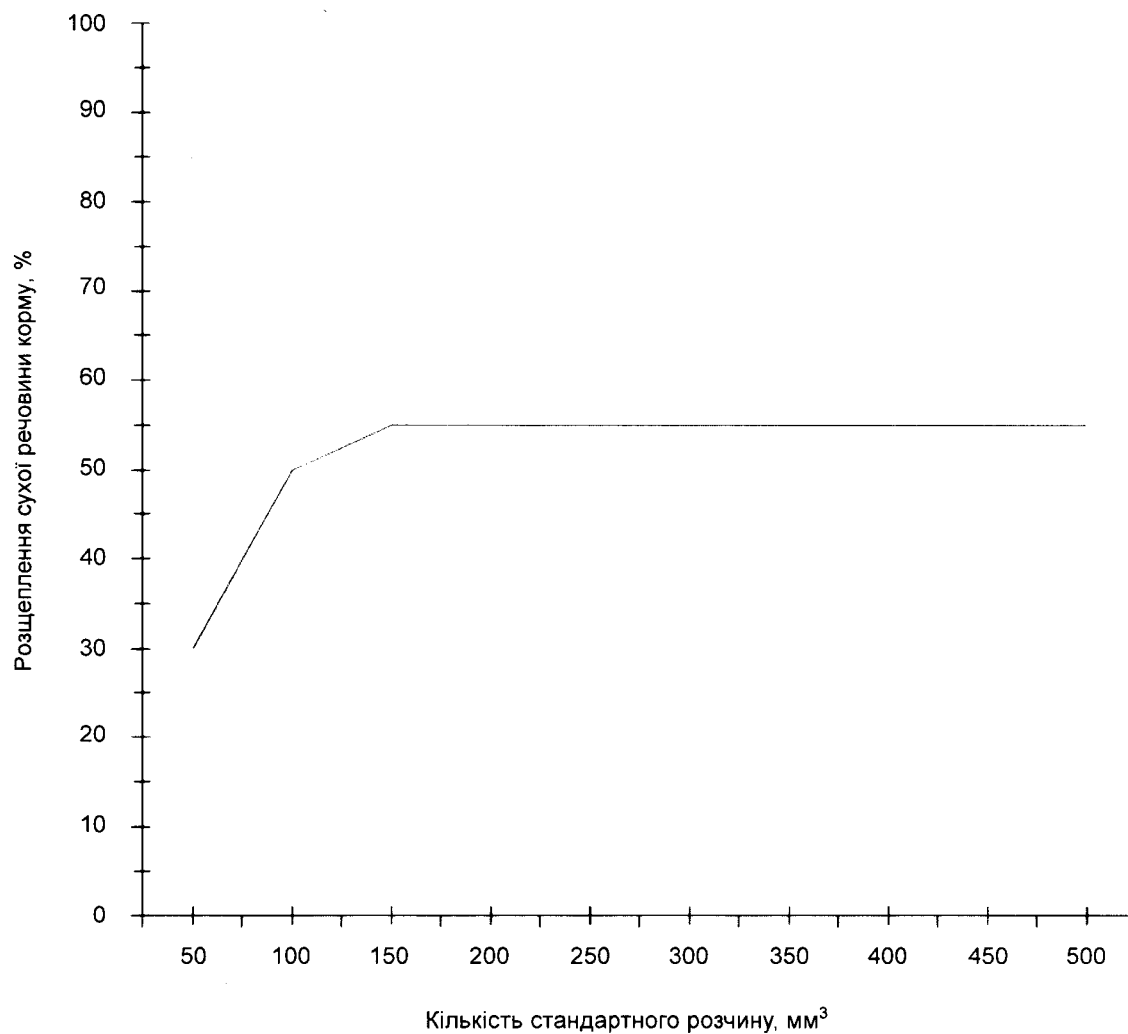


Рисунок А.1 — Визначення активності целюлози

Код УКНД 65.120

Ключові слова: коефіцієнт, корми, метод, розщеплення, якість.
