

КОРМА РАСТИТЕЛЬНЫЕ

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕРЕВАРИМОСТИ IN VITRO

Издание официальное

БЗ 9—99

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ
Москва

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА РАСТИТЕЛЬНЫЕ

Метод определения переваримости *in vitro*Vegetable feeds. Method for determination of digestibility *in vitro*ГОСТ
24230—80МКС 65.120
ОКП 92 8000

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 6 июня 1980 г. № 2627 дата введения установлена

01.07.81

Ограничение срока действия снято Постановлением Госстандарта СССР от 06.06.91 № 816

Настоящий стандарт распространяется на растительные корма и устанавливает метод определения переваримости сухого вещества кормов *in vitro*. Метод применяют в агротехнических и селекционных опытах.

Сущность метода заключается в определении степени переваримости (растворения) сухого вещества с помощью ферментов пепсина и целлювиридина.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1. МЕТОД ОТБОРА ПРОБ

1.1. Отбор проб зеленого корма

1.1.1. На участке травостоя выделяют 8—10 учетных площадок размером 1—2 м². Травостой скашивают на высоте 3—5 см. Полученную со всех учетных площадок зеленую массу послонно расстилают на брезенте или полимерной пленке и тщательно перемешивают, получая таким образом объединенную пробу. Для составления средней пробы, масса которой должна быть 1,5—2,0 кг, траву берут порциями по 150—200 г из 10 различных мест. Пробу помещают в пакет из полимерной пленки, куда вкладывают этикетку с указанием адреса и наименования хозяйства, отделения, бригады, номера поля, участка, вида травостоя, фазы вегетации и года урожая. Отобранную пробу сразу же направляют в лабораторию для подготовки к анализу.

1.1.2. От зеленой массы, доставленной на фермы для непосредственного скормливания животным или для приготовления силоса, сенажа, искусственно-обезвоженных кормов, точечные пробы берут вручную или пробоотборником не менее чем из 10 мест порциями по 400—500 г; зеленый корм послонно расстилают на брезенте или полимерной пленке и тщательно перемешивают, получая таким образом объединенную пробу. Среднюю пробу составляют, как указано в п. 1.1.1.

1.2. Отбор проб сена — по ГОСТ 4808—87.

1.3. Отбор проб силоса — по ГОСТ 23638—90.

1.4. Отбор проб сенажа — по ГОСТ 23637—90.

1.5. Отбор проб брикетов, гранул и муки из трав — по ГОСТ 13496.0—80.

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ

2.1. Для проведения испытания применяют:
мельницу лабораторную марки МФК-2 или других марок, обеспечивающих равномерное, измельчение корма на частицы размером около 1 мм;
весы лабораторные аналитические;
весы технические 2—3-го класса точности;
термостат биологический с температурой нагрева 38—40 °С;

Издание официальное

Перепечатка воспрещена

Издание (сентябрь 2003 г.) с Изменением № 1, утвержденным в июне 1986 г.
(ИУС 9—86).

© Издательство стандартов, 1980
© ИПК Издательство стандартов, 2003

насос водоструйный лабораторный;
 шкаф сушильный лабораторный;
 центрифугу лабораторную с частотой вращения 2500 мин^{-1} ;
 пипетку автоматическую вместимостью 50 см^3 ;
 пробирки центрифужные вместимостью 100 см^3 ;
 эксикатор по ГОСТ 25336—82 или аналогичных марок;
 штативы для пробирок;
 пепсин медицинский;
 фермент целлюлазу (целловиридин) марки ГЗх, активностью не менее 75 ед/г ;
 кислоту соляную по ГОСТ 3118—77, х.ч.;
 кислоту лимонную, ос.ч.;
 натрий кислый ортофосфорнокислый двузамещенный 12-водный, ос.ч.;
 воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.
(Измененная редакция, Изм. № 1).

3. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

3.1. Приготовление реактивов

3.1.1. Раствор пепсина, 0,2 %-ный: 2 г пепсина растворяют в 1 дм^3 0,1 М соляной кислоты.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.1.2. Раствор лимонной кислоты 0,1 М: $21,008 \text{ г}$ лимонной кислоты растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды.

3.1.3. Раствор кислого ортофосфорнокислого натрия 0,2 М: $35,52 \text{ г}$ натрия кислого ортофосфорнокислого растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды.

3.1.4. Раствор цитрат-фосфатный буферный с рН 4,6: $10,65 \text{ см}^3$ 0,1 М раствора лимонной кислоты смешивают с $9,35 \text{ см}^3$ 0,2 М раствора натрия кислого ортофосфорнокислого.

3.1.5. Раствор целлюлазы: 5 г целловиридина растворяют в 1 дм^3 цитрат-фосфатного буфера.

3.1.6. Определение активности целлюлазы

Для определения активности целлюлазы готовят стандартный раствор: 5 г целловиридина растворяют в 100 см^3 цитрат-фосфатного буфера, получая таким образом в 1 см^3 раствора 50 мг фермента. В 10 предварительно высушенных до постоянной массы пробирок помещают по 200 мг корма известной переваримости, значение которой определено в опытах *in vivo* (на животных), приливают в каждую из них соответствующее количество стандартного раствора и цитрат-фосфатного буфера, как указано в таблице.

Номер пробирки	Количество стандартного раствора, см^3	Количество цитрат-фосфатного буфера, см^3	Содержание (активность), фермента, мг	Переваримость корма, %
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	

Пробирки закрывают пробками, ставят в биологический термостат и выдерживают там в течение 24 ч при температуре $38\text{--}40 \text{ }^\circ\text{C}$. После этого надосадочную жидкость отсасывают водоструйным насосом, а пробирки с остатками непереваренного корма высушивают в сушильном шкафу при температуре $100\text{--}105 \text{ }^\circ\text{C}$ до постоянной массы. Переваримость (растворимость) сухого вещества корма в каждой пробирке определяют по формуле, приведенной в п. 5.1. На основании полученных данных о переваримости корма строят калибровочную кривую. Оптимальной считается та доза фермента, увеличение которой не приводит к дальнейшему (более 5 %) повышению переваримости (растворимости) сухого вещества корма.

3.1.5, 3.1.6. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3.2. Подготовка пробы для анализа

3.2.1. Сразу после поступления в лабораторию, но не более 4 ч после отбора пробы фиксируют в сушильном шкафу при температуре $80\text{--}90 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 30 мин для прекращения ферментативных процессов в свежескошенных растениях.

3.2.2. 50—100 г корма высушивают в сушильном шкафу при температуре 65 °С до воздушно-сухого состояния и измельчают на лабораторной мельнице до размера частиц 1 мм.

3.2.3. Массовую долю гигроскопической влаги определяют по ГОСТ 23637—90.

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

4.1. Навески измельченного воздушно-сухого корма массой около 500 мг, взвешенные с погрешностью не более 0,001 г, помещают в пробирки, предварительно высушенные до постоянной массы, заливают 50 см³ 0,1 н. раствора солянокислого пепсина, закрывают пробками и выдерживают в биологическом термостате 24 ч при 38—40 °С. После этого надосадочную жидкость удаляют водоструйным насосом и фильтровальной трубкой, промывают дистиллированной водой, центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 2500 мин⁻¹ и снова удаляют надосадочную жидкость.

Остаток в пробирках заливают 50 см³ раствора целлюлазы и снова помешают в биологический термостат на 48 ч при 38—40 °С. Периодически (3—4 раза в день) содержимое пробирок встряхивают так, чтобы частицы корма не оставались на стенках пробирок. По окончании второго этапа переваривания надосадочную жидкость удаляют, промывают непереваренный остаток дистиллированной водой, центрифугируют в течение 5 мин с частотой вращения 2500 мин⁻¹ и снова отсасывают надосадочную жидкость водоструйным насосом с фильтровальной трубкой. Пробирки с непереваренными остатками помещают в сушильный шкаф, высушивают при 100—105 °С до постоянной массы и после охлаждения в эксикаторе взвешивают с погрешностью не более 0,001 г.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.2. В каждый опыт, кроме испытуемых образцов, включают не менее двух контрольных образцов корма (злакового, бобово-злакового и так далее, в зависимости от изучаемого вида растений) с известной (высокой, низкой, промежуточной) переваримостью сухого вещества, определенной методом *in vivo*.

Данные, полученные *in vivo*, позволяют рассчитать коэффициенты поправки или уравнение регрессии для перевода данных *in vitro* в *in vivo* и сравнивать результаты, полученные в разное время и в разных лабораториях.

(Введен дополнительно, Изм. № 1).

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Переваримость сухого вещества корма *in vitro* (P_{cv}) в процентах вычисляют по формуле

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

где m — масса навески корма, мг;

m_1 — масса высушенного непереваренного остатка корма, мг;

m_2 — массовая доля гигроскопической влаги в корме, %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений не должны превышать 3 %.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

Редактор Л.И. Нахимова
Технический редактор В.С. Гришанова
Корректор М.С. Кабацова
Компьютерная верстка Л.А. Круговой

Изд. лиц. № 02354 от 14.07.2000. Подписано в печать 13.10.2003. Усл. печ. л. 0,47. Уч.-изд. л. 0,40. Тираж 132 экз. С 12366. Зак. 899.

ИПК Издательство стандартов, 107076 Москва, Колодезный пер., 14.

<http://www.standards.ru> e-mail: info@standards.ru

Набрано в Издательстве на ПЭВМ

Филиал ИПК Издательство стандартов — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

Плр № 080102