ISIRI

10703 – 2

1st . revision

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran

استاندارد ملی ایران
۱۰۷۰۳-۲
تجدید نظراول

خوراک دام، طیور و آبزیان ـ اندازه گیری مقدار ازت و محاسبه مقدار پروتئین خام ـ قسمت۲: روش هضم و تقطیر

Animal feeding stuffs - Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content
Part 2: Block digestion and steam - distillation method

ICS:65.120

به‌نام خدا

آشنایی با مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک مادهٔ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود وکوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود .پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی(رسمی) ایران چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند درکمیتهٔ ملی طرح و بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود .بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که مؤسسه استاندارد تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)[۱] کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)[۲] و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)[۳] است و به عنوان تنها رابط[۴] کمیسیون کدکس غذایی (CAC)[۵] در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشو ر و / یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سا زمانها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش ، مؤسسهٔ استاندارد این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این مؤسسه است.

---

* موسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

1- International organization for Standardization

۲- International Electro technical Commission

۳- International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrology Legal)

4 - Contact point

۵- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

" خوراک دام،طیور و آبزیان ـ اندازه گیری مقدار ازت و محاسبه مقدار پروتئین خام ـ قسمت دوم: روش هضم و تقطیر "

(تجدیدنظر اول)

رئیس:	**سمت و/ یا نمایندگی**
مکتبی، سیاوش (دکترای تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی)	عضو هیأت علمی دانشگاه شهید چمران
دبیران:	
سرگزی، سارا (لیسانس مهندسی منابع طبیعی- شیلات)	کارشناس آموزش اداره کل استاندارد وتحقیقات صنعتی استان خوزستان
کی شمس، لیلی (کارشناس ارشد شیمی)	کارشناس آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران
اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفباء)	
بهنام فر، بابک (لیسانس میکروبیولوژی)	کارشناس شرکت نفت و گاز کارون
توسلی، حسین (کارشناس ارشد تغذیه)	کارشناس تغذیه دانشگاه کشاورزی رامین
حقیقت، فاطمه (دکترای حرفه ای دامپزشکی)	کارشناس
دوستی خواه، سمیرا (لیسانس شیمی)	کارشناس
سلمان دریس، سکینه (لیسانس شیمی)	کارشناس اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان خوزستان
کاوسی نژاد، مهناز (دکترای حرفه ای دامپزشکی)	مسئول کنترل کیفیت داروخانه
محتشم، مریم (کارشناسی ارشد شیمی)	کارشناس شرکت ملی نفت ایران

فهرست مندرجات

عنوان		صفحه
آشنایی با مؤسسهٔ استاندارد		ج
کمیسیون فنی تدوین استاندارد		د
پیش گفتار		و
مقدمه		ه
۱	هدف	۱
۲	دامنه کاربرد	۱
۳	مراجع الزامی	۱
۴	اصطلاحات و تعاریف	۲
۵	اصول آزمون	۲
۶	موادو/یاواکنشگرها	۲
۷	وسایل	۵
۸	نمونه برداری	۵
۹	آماده سازی نمونه جهت آزمایش	۵
۱۰	روش اجرای آزمون	۶
۱۱	محاسبات و بیان نتایج	۹
۱۲	دقت	۱۱
۱۳	گزارش آزمون	۱۱
۱۴	پیوست الف (اطلاعاتی)ـ نتایج آزمون های بین آزمایشگاهی	۱۳
۱۵	پیوست ب (اطلاعاتی)ـ نتایج آزمون های بین آزمایشگاهی	۱۷

پیش گفتار

استاندارد " خوراک دام،طیور و آبزیان ـ اندازه گیری مقدار ازت و محاسبه مقدار پروتئین خام ـ قسمت دوم: روش هضم و تقطیر " نخستین بار در سال ۱۳۸۶ تدوین شد. این استاندارد براساس پیشنهادهای رسیده و بررسی و تائید کمیسیون‌های مربوط برای اولین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت ودر اجلاس کمیتهٔ ملی استاندارد۹۵۸ مورخ ۸۹/۵/۹ مورد تصویب قرار گرفته است ، اینک به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوّب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحوّلات و پیشرفت های ملی و جهانی در زمینهٔ صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت . بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۷۰۳: سال ۱۳۸۶می شود.

منبع و ماخذ ی که برای تدوین این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

ISO 5983-2: 2009, Animal feeding stuffs - Determination of nitrogen content and calculation Part 2: Block digestion and steam distillation method-of crude protein content

خوراک دام،طیور و آبزیان ـ اندازه گیری مقدار ازت و محاسبه مقدار پروتئین خام ـ قسمت دوم: روش هضم و تقطیر

(تجدیدنظر اول)

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، ارائه تعیین و روش به منظور تعیین مقدار ازت خوراک حیوان به روش کلدال و بیان روش محاسبه مقدار پروتئین خام آن خوراک می باشد.

این یک روش ساده و تا حدی میکرو است که در آن از بلوک هضم، کاتالیزور مس و تقطیر بخار در بوریک اسید استفاده می شود.

این استاندارد، برای تعیین ازت در خوراک دام و طیور، غذای حیوانات خانگی یا مواد مورد استفاده در آن ها که بیش از ۵٪ ازت کلدالی دارند، کاربرد دارد.

این روش، ازتی که به فرم اکسیده شده یا به شکل ترکیبات حلقه ای باشند را نمی تواند اندازه گیری کند.

این روش، نمی تواند ازت پروتئینی و ازت غیر پروتئینی را از هم تمیز دهد.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می شود.

در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدید نظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه های بعدی آن ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۲-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۲۸، آب ـ مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه ـ ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.

۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۷۵۷۰، خوراک دام ، طیور و آبزیان اصول نمونه برداری.

۲-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۳۰۲۱، خوراک دام و طیور و آبزیان ـ آماده کردن نمونه آزمایش.

۲-۴ استاندارد ملی ایران شماره ۲- ۱۱۵۰۴، تجهیزات حجم سنجی پیستونی ـ قسمت ۲ـ پیپت‌های پیستونی

۲-۵ استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۵۶، ظروف شیشه‌ای آزمایشگاهی ـ بورت‌ها - ویژگی‌ها

۲-۶ استاندارد ملی ایران شماره ۳۷۱۸، تعیین مقدار ازت تام و محاسبه مقدار پروتئین خام در خوراک دام و طیور

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌رود:

۳-۱

مقدار ازت

مقدار ازت به دست آمده در فرآیند آزمون با استفاده از روش تعیین شده در این استاندارد است.

یادآوری- مقدار ازت به صورت درصد وزنی یا گرم درکیلوگرم، بیان می‌شود.

۳-۲

مقدار پروتئین خام

مقدار ازت به دست آمده در(بند ۴-۱)ضرب در فاکتور۶٫۲۵ است.

یادآوری- مقدار پروتئین خام به صورت درصد وزنی یا گرم در کیلوگرم، بیان می شود.

۴ اصول آزمون

آزمونه با استفاده از دستگاه هضم یا دستگاه مشابه آن مورد استفاده قرار می گیرد. سولفوریک اسید غلیظ برای تبدیل ازت پروتئینی به آمونیوم سولفات استفاده می شود. این عمل در زمانی که اسید به نقطه جوش می رسد، انجام می گیرد. برای بالا بردن نقطه جوش اسید غلیظ از پتاسیم سولفات استفاده می شود. کاتالیزور مس برای افزایش سرعت واکنش استفاده می شود. مقداری سدیم هیدروکسید به منظور آزاد سازی آمونیاک به محلول خنک کننده حاصل، اضافه می شود.

آمونیاک آزاد شده به کمک واحد های تقطیر کننده دستی، نیمه اتوماتیک یا تمام اتوماتیک، تقطیر می شود. در موارد استفاده از تقطیر کننده های دستی و نیمه اتوماتیک، آمونیاک تقطیر شده به محلول بوریک اسید وارد می شود، سپس تیتراسیون با محلول هیدروکلریک اسید، انجام می گیرد. در جایی که از دستگاه تمام اتوماتیک استفاده می شود، تیتراسیون آمونیاک هم زمان با عمل تقطیر انجام می شود.

مقدار ازت از مقدار آمونیاک تولید شده محاسبه می شود. مقدار پروتئین خام از حاصل ضرب مقدار ازت به دست آمده در فاکتور متدوال ۶٫۲۵ ، به دست می آید.

۵ موادو/یا واکنشگرها

تنها از واکنشگرهایی استفاده کنید که از درجه آزمایشگاهی مشخص و معتبری برخوردار هستند، مگر در موارد خاص از آب تقطیر شده یا آب عاری از مواد معدنی یا آب های مشابه آن استفاده کنید.

۵-۱ قرص های کاتالیزور کلدال

هر قرص شامل ۳٫۵ گرم پتاسیم سولفات و ۰٫۴ گرم مس سولفات دو ظرفیتی پنج آبه ($CuSO_4\ 5H_2O$)است.

این قرص ها ممکن است به صورت تجاری موجود باشد.

انواع دیگری از این قرص ها می توانند مورد استفاده قرار گیرند، مشروط بر این که:
الف ـ حاوی مقداری پتاسیم سولفات باشد، به طوریکه هر قرص یا مضرب صحیحی از آن شامل ۷ گرم پتاسیم سولفات و ۰٫۸ گرم مس سولفات دو ظرفیتی پنج آبه($CuSO_4\ 5H_2O$) باشد.
ب ـ عاری از نمک های فلزات سمی از قبیل: سلنیوم یا جیوه باشند.

۲-۵ سولفوریک اسید($H_2\ SO_4$)، با درصد حجمی حداقل٪۹۸ ، عاری از ازت با چگالی۱٫۸۴ گرم بر مول.

۳-۵ محلول هیدروژن پراکسید ،تقریبا شامل۳۰ گرم از H_2O_2 در ۱۰۰ میلی لیتر.

۴-۵ ضد کف ، استفاده از سیلیکون توصیه می شود. به طور مثال : به نسبت ٪۳۰ امولسیون آبی استفاده می شود.

۵ -۵ محلول سدیم هیدورکسید (NaOH)، تقریبا ٪۴۰ (حجمی)، عاری از ازت (۵ میکروگرم ازت در هر گرم).

۶-۵ محلول های شناساگر

۱-۶-۵ محلول متیل رد، محلول ۱۰۰ میلی گرم متیل رد ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) در ۱۰۰ میلی لیتر از اتانول یا متانول.

۲-۶-۵ محلول بروموکروزول سبز

محلول ۱۰۰ میلی گرم بروموکروزول سبز $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ در ۱۰۰ میلی لیتر از اتانول یا متانول.

۷-۵ محلول بوریک اسید غلیظ، با غلظت ۴۰ گرم بر لیتر ($c(H_3BO_3)$)

۴۰۰ گرم بوریک اسید را در ۵ لیتر تا ۶ لیتر آب داغ روی هیتر گرم شده، حل کنید. آب داغ بیشتری به محلول اضافه کنید تا حجم آن به حدود ۹ لیتر برسد. اجازه دهید محلول تا حدود دمای اتاق، خنک شود. ۷۰ میلی لیتر محلول متیل رد طبق (بند۵-۶-۱) و ۱۰۰ میلی لیتر محلول بروموکروزول سبز طبق بند (۵-۶-۲) به آن اضافه کرده و خوب هم بزنید. حجم نهایی را با آب رقیق نموده و به ۱۰ لیتر آب برسانید و خوب هم بزنید. بسته به آب اضافه شدهpH محلول بوریک اسید در هر دسته متفاوت است. اغلب برای تنظیم آن و به دست آوردن شاهد معین, ضروری است که از حجم خیلی کم قلیا (۰٫۰۵ تا ۰٫۱۵ میلی لیتر تیتر کننده)، استفاده شود. هنگامی که ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر برای رقیق کردن ۲۵ میلی لیتر بوریک اسید استفاده می شود، رنگ آن باید به رنگ سبز تغییر کند. اگرهنوز رنگ آن قرمز است، با سدیم هیدروکسید ۰٫۱ مول در لیتر تا ایجاد رنگ خاکستری آن را تیتر کنید و مقدار باز مورد نیاز برای دسته ۱۰ لیتری را محاسبه کنید. محلول را که رنگ آن قرمز خواهد شد در دمای اتاق، دور از نور و گاز آمونیاک نگه داری کنید.

۸-۵ محلول بوریک اسید رقیق، با غلظت ۱۰ گرم بر لیتر ($c(H_3BO_3)$) (در موارد استفاده از دستگاه اتوماتیک از محلول مناسب دستگاه استفاده شود)

۱۰۰ گرم بوریک اسید را در۵ لیترتا۶ لیتر آب داغ، حل کنید. آب داغ بیشتری به محلول اضافه کنید تا حجم آن به حدود ۹ لیتر برسد. اجازه دهید محلول تا حدود دمای اتاق، خنک شود. ۷۰ میلی لیتر محلول

متیل رد طبق (بند۵-۶-۱)و ۱۰۰ میلی لیتر محلول بروموکروزول سبز طبق (بند۵-۶-۲)به آن اضافه کرده و خوب هم بزنید. حجم نهایی آن را با آب رقیق نموده و به ۱۰ لیتر آب برسانید و خوب هم بزنید. بسته به آب اضافه شده pH محلول بوریک اسید در هر دسته متفاوت است. اغلب برای تنظیم آن و به دست آوردن شاهد معین، ضروری است که از حجم خیلی کم قلیا(۰۵/۰تا ۱۵/۰ میلی لیتر تیتر کننده)، استفاده شود.هنگامی که ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر برای رقیق کردن ۲۵ میلی لیتر بوریک اسید استفاده می شود، رنگ آن باید به رنگ سبز تغییر کند. اگرهنوزرنگ آن قرمز است، با سدیم هیدروکسید۰/۱ مول در لیتر تا ایجاد رنگ خاکستری آن را تیتر کنید و مقدار باز مورد نیاز برای دسته ۱۰ لیتری را محاسبه کنید. محلول را که رنگ آن سبز روشن خواهد شد در دمای اتاق، دور از نور و گاز آمونیاک نگه داری کنید.

یادآوری: معمولا اضافه کردن حدود ۳ میلی لیتر تا ۴ میلی لیتر سود ۰/۱مولار به ۱ لیتر بوریک اسید ٪۱ موجب تنظیم خوب محلول می شود.

۵-۹ محلول حجمی استاندارد هیدروکلریک اسید c(HCl) با غلظت ۰/۱۰۰۰ مول بر لیتر

اگر محاسبات به طور صحیحی انجام گیرد، از غلظت های دیگر هیدروکلریک اسید یا سولفوریک اسید ممکن است استفاده شود. غلظت ها همیشه باید با چهار رقم اعشار بیان شوند.

۵-۱۰ آمونیوم سولفات $(NH_4)_2SO_4$ ،حداقل٪۹۹/۵ (نسبت حجمی) با خلوص تایید شده.

سولفات آمونیوم در دمای ۲±۱۰۲ درجه سلسیوس برای مدت زمان ۴ ساعت خشک شده و در دسیکاتور نگه داری شود.

درصد ازت در آمونیوم سولفات (در ٪۹۹/۵ خلوص) ٪۲۱/۰۹ است.

۵-۱۱ آمونیم آهن (II) سولفات $\{(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O\}$ با خلوص تایید شده.

درصد ازت در آمونیم آهن (II) سولفات (با خلوص٪ ۱۰۰) ۷/۱۴۵ است.

۵-۱۲ مواد استاندارد

هر یک از مواد استاندارد شرح داده شده در(بند های ۵-۱۲-۱ یا ۵-۱۲-۲)ممکن است استفاده شود.
علاوه بر مواد استاندارد شده که در زیر فهرست شده است، از مواد با منابع مناسب که ارزش استفاده آن ها در تعیین ازت و پروتئین به روش کلدال تایید شده، هر زمان که لازم باشد باید استفاده کرد.
یادآوری : میزان رطوبت را در قسمت های جداگانه می‌توان چک کرد.

۵-۱۲-۱ تریپتوفان (C11H12N2O2)، با نقطه ذوب ۲۸۲ درجه سلسیوس ، میزان ازت ۱۳۷/۲ گرم در کیلوگرم است. پیش از استفاده تریپتوفان را خشک کنید.

۵-۱۲-۲ استانیلید (C8H9NO)، با عیار حداقل ٪۹۹ (نسبت حجمی) . میزان ازت ۱۰۳/۶ گرم در کیلوگرم است. نباید پیش از استفاده درگرم خانه خشک شود.

۵-۱۳ ساکاروز $(C_{12}H_{22}O_{11})$، میزان نیتروژن آن نباید بیش از ٪۰/۰۰۲ (کسر جرمی) باشد. نباید پیش از استفاده در گرم خانه خشک شود.

۶ وسایل

وسایل معمول آزمایشگاهی، به ویژه لوازم زیر.

۶-۱ ترازوی آزمایشگاهی، با دقت ۰٫۱ میلی‌گرم.

۶-۲ قطعات دستگاه هضم، این قطعات از آلیاژ آلومینیوم یا معادل آن، مجهز به تنظیم کننده حرارت و دستگاه اندازه‌گیری دمای دستگاه هضم، توانایی تحمل حرارت تادمای ۵±۴۲۰ درجه سلسیوس.

۶-۳ بالن هضم، با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر، مناسب برای استفاده در دستگاه هضم طبق (بند۲-۶).

۶-۴ خروجی چندراهه، مناسب برای استفاده در دستگاه هضم.

۶-۵ دستگاه تصفیه گریز از مرکز، پمپ یا مکنده، ساخته شده از مواد مقاوم در برابر اسید، قابل اتصال به بالن آب.

۶- ۶ پی‌پت‌های اتوماتیک(توزیع کننده)، با قابلیت انتقال حجم تا۲۵ میلی لیتر.مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲- ۱۱۵۰۴ (ISO8655-5).

۶-۷ استوانه مدرج(با حجم ۵۰ میلی‌لیتر).

۶-۸ واحد تقطیر، توانایی تقطیر بخار آب را داشته باشد، دستی یا نیمه اتوماتیک، مناسب برای اتصال به بالن های هضم طبق (بند۶-۳)، بالن مخروطی شکل طبق (بند۶-۹)، یا مناسب برای تقطیر و تیتراسیون اتوماتیک.

۶-۹ بالن مخروطی، (با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر).

۶-۱۰ بورت، با حجم ۲۵ میلی‌لیتر یا حجم مناسب، درجه‌بندی شده به طوری که کوچک ترین درجه قابل خواندن آن حداقل ۰٫۰۵ میلی‌لیتر باشد، مطابق با استاندارد ملی ایران شماره۱۹۵۶، ظروف شیشه ای آزمایشگاهی – بورت‌ها –ویژگی‌ها

می توان از بورت اتوماتیک مطابق با استاندارد (ISO8655-3) با مشخصات مشابه به طور جایگزین استفاده کرد.

۶- ۱۱ تیتراتور اتوماتیک، با یکpH متر کالیبره شده در رینجpH=۴ تا pH=۷ .

۷ نمونه برداری

نمونه نماینده باید به آزمایشگاه فرستاده شود. نمونه در حین ارسال به آزمایشگاه و یا نگه داری نباید دست خوش تغییر یا تخریب شود.

نمونه برداری باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۷۵۷۰ ، خوراک دام، طیور و آبزیان ــ اصول نمونه برداری، انجام شود.

۸ آماده سازی نمونه برای آزمایش

آماده سازی نمونه باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۳۰۲۱، خوراک دام، طیور و آبزیان – آماده کردن نمونه آزمایش، انجام شود.

۹ روش انجام آزمون

۹-۱ آزمایه باید مطابق با روش توصیف شده در این استاندارد تجزیه شود. جهت نیازهای معمول برای به کار بردن روش کلدال از استاندارد ملی ایران شماره ۳۷۱۸ ، تعیین مقدار ازت تام و محاسبه مقدار پروتئین خام در خوراک دام و طیور، استفاده کنید.

۹-۲ آزمونه

بر اساس نوع آزمونه مقدار نمونه باید با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰٫۱ گرم، وزن شود.

- برای مواردی با ٪۳ پروتئین تا ٪۳۰ پروتئین، تقریباً ۱گرم نمونه لازم است.
- برای مواردی با ٪۳۰ پروتئین تا ٪۸۰ پروتئین، تقریباً ۰٫۵ گرم نمونه لازم است.
- برای مواردی با بیش از ٪۸۰ پروتئین، تقریباً ۰٫۳ گرم نمونه لازم است.

مقدار نمونه از ۱٫۲ گرم بیشتر نباشد. همواره استانداردها و کنترل کیفیت را برای نمونه شاهد، هم زمان با آزمونه انجام دهید.

۹-۳ انجام آزمایش

۹-۳-۱ هضم

آزمونه طبق (بند۹-۲) را به داخل بالن هضم طبق (بند۶-۳)، انتقال دهید و ۲ عدد قرص کاتالیزور طبق (بند۵-۱) به آن اضافه کنید. به کمک پی پت مدرج ۱۲ میلی‌لیتر سولفوریک اسید طبق (بند۵-۲) به هر بالن اضافه کنید. برای موادی که چربی بالایی دارند(بیش از ۱۰ درصد)، ۱۵ میلی‌لیتر اسید اضافه کنید. متوقف کردن آزمایش در این مرحله و ادامه آن در روز بعد بلامانع است.

اگر کف کردن مشکل ایجاد می‌کند، می‌توانید ۳ تا ۵ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید طبق (بند۵-۳) به آرامی به بالن هضم اضافه کنید. به آرامی بالن را بچرخانید و اجازه دهید که واکنش فروکش کند. راه حل دیگر استفاده از چند قطره عامل ضدکف طبق(بند۵-۴) است. بالن هضم را روی صفحه هیتر قرار دهید. چند راهه خروجی طبق(بند۶-۴)را محکم به بالن هضم، متصل کرده و پمپ آبی طبق (بند۶-۵) را به طور کامل به آن متصل کنید. بالن های هضم را روی هیتری که قبلاً تا دمای ۴۲۰ درجه سلسیوس گرم شده است، قرار دهید طبق (بند۲-۶) عمل هضم را تا مدت زمان ۵۰ دقیقه بعد نیز ادامه دید. کل زمان هضم باید به مدت زمان تقریباً ۶۰ دقیقه طول بکشد.

دستگاه هضم را خاموش کنید. بالن ها را در حالی که دیگر اتصالات خروج گاز هنوز به آن متصل است از هیتر جدا کنید و آن را به حالت ایستاده به مدت زمان۱۰دقیقه تا ۲۰ دقیقه جهت خنک شدن، قرار دهید. زمانی که دود کردن تولید بخارهای اسید متوقف شد، اتصالات چند راهه را بالن هضم جدا کرده و شیر مکنده را ببندید.

اجازه دهید تا بالن‌ها خنک شود. توصیه می‌شود، پیش از تقطیر، به طور دستی رقیق سازی اولیه در نمونه‌ها انجام گیرد. به این منظور، دستکش‌ها و حفاظت کننده چشم را بپوشید و با دقت چند میلی‌لیتر آب را به هر یک از بالن ها اضافه کنید. اگر حالت پاشیدن به اطراف اتفاق افتاد، این به این معنی است که، بالن ها هنوز خیلی داغ هستند. اجازه دهید که بالن‌ها برای مدت بیشتری خنک شوند. آن قدر آب به بالن‌ها اضافه کنید تا حجم کل، تقریباً به ۸۰ میلی‌لیتر برسد. اگر نمونه هنوز ذرات جامد دارد، بالن محتوی مواد هضم شده رقیق شده را روی دستگاه هضم قرار داده و گاهی آن را بچرخانید. گرم کردن را تا حل شدن تمامی املاح ادامه دهید، این عمل را بیش از مدت ۳۰ ثانیه تا۶۰ ثانیه انجام دهید.

یادآوری ۱- بعضی از دستگاه ها اضافه کردن آب را به طور اتوماتیک انجام می‌دهند. پیش رقیق سازی قبل از قرار دادن بالن‌ها در این دستگاه تنها زمانی مورد نیاز است که املاح سختی تشکیل شده باشند.

یادآوری ۲- بعضی از دستگاه های تقطیر، با افزودن بخار پیش از اضافه کردن قلیا آغاز به کار می‌کنند، که این امر منجر به قابل حل شدن قرص‌های نمک شده و موجب کاهش شدت سختی واکنش هنگام افزودن قلیا می‌شود. کریستاله شدن هضم، می‌تواند سبب اتلاف ازت شود.

۹-۳-۲ تقطیر

بالن هضم را طبق (بند۹-۳-۱) به واحد تقطیر طبق (بند۶-*l*) انتقال دهید. جایی که تیتراسیون محلول محتوی آمونیاک حاصله از تقطیر به صورت دستی صورت می‌گیرد، به تذکرات زیر در حین انجام کار باید توجه شود. جایی که واحد تقطیر به صورت کاملاً اتوماتیک است و تیتراسیون آمونیاک حاصله از تقطیر را نیز شامل می‌شود، از راهنمای کارخانه سازنده دستگاه برای آماده سازی و انجام آزمایش، پیروی کنید.

بالن مخروطی طبق (بند۶-۹) حاوی ۲۵ میلی‌لیتر تا ۳۰ میلی‌لیتر بوریک اسید غلیظ طبق (بند۵-۷)را زیر بالن خروجی تقطیرکننده(کندانسور) قرار داده، به طوری که بالن انتقال دهنده کندانسور پایین‌تر از سطح اسید داخل بالن مخروطی باشد. واحد تقطیر را با ۵۰ میلی‌لیتر محلول سدیم هیدروکسید تنظیم کنید طبق (بند۵-۵). واحد تقطیر را طبق دستورالعمل کارخانه سازنده آن به کار بیندازید و تقطیر کردن آمونیاک آزاد شده ناشی از افزودن محلول سدیم هیدروکسید را متوقف کنید. محصول تقطیر شده را در محلول دریافت کننده بوریک اسید، جمع‌آوری کنید. مقدار محصول تقطیر(زمان تقطیر)، بستگی به میزان ازت نمونه دارد. از دستورالعمل کارخانه سازنده، پیروی کنید.

یادآوری- در واحد تقطیر کننده نیمه اتوماتیک، اضافه شدن هیدروکسید سدیم اضافه و تقطیر بخار به صورت اتوماتیک انجام می‌شود.

۹-۳-۳ تیتراسیون

۹-۳-۳-۱ رنگ سنجی

تیتر کردن محتویات بالن مخروطی طبق (بند۶-۹) به وسیله محلول حجمی استاندارد هیدروکلریک اسید طبق (بند۵-۹) با استفاده از بورت مدرج طبق (بند۶-۱۰) با خواندن مقدار مصرف تیتر کننده، انجام می‌گیرد. اولین نشان در رسیدن به نقطه پایانی ظهور رنگ صورتی در محتویات بالن مخروطی است. تقریب

خواندن درجات بورت مدرج ۰٫۰۵ میلی‌متر است. صفحه هم زن مغناطیسی نورانی یا تشخیص دهنده نوری، ممکن است در تجسم کردن پایان آزمایش به ما کمک کند.
تیتراسیون می‌تواند به طور اتوماتیک با استفاده از تقطیر کننده و تیتراسیون اتوماتیک انجام شود.

۹-۳-۳-۲ پتانسیومتری

محتویات بالن مخروطی طبق (بند۶-۹)را به وسیله محلول حجمی استاندارد هیدروکلریک اسید طبق(بند ۵-۹) با استفاده از یک تیتراتور اتوماتیک که به طور مناسبی با یک pH متر طبق (بند۶-۱۱) کالیبره شده، تیتراسیون کنید. نقطه پایانی تیتراسیون در۴٫۶ =pH به دست می آیدکه نقطه شیب در مرکز تیتراسیون می باشد، مقدار تیتر کننده مورد استفاده را در تیتراتور اتوماتیک بخوانید.
از دستورالعمل کارخانه سازنده برای بهره برداری از دستگاه تقطیر ویا ترکیب و تیتراتور، پیروی کنید.
هنگامی که برای تیتراسیون از یک دستگاه اتوماتیک استفاده می شود، تعیین تیتر بلافاصله پس از آغاز تقطیر آغاز می شود و برای رقیق کردن از محلول بوریک اسید طبق (بند۵-۸) باید استفاده شود.

۹-۴ آزمون شاهد

آزمون شاهد را به جای آزمونه روی ۲ میلی‌لیتر آب و حدود ۰٫۷ گرم ساکاروز طبق (بند۵-۱۳)، بر اساس روش شرح داده شده در(بندهای ۹-۱ تا ۹-۳-۳) انجام دهید. داده‌های آزمایش شاهد را ثبت و نگه داری کنید. اگر داده‌های شاهد تغییر کرد، علت‌ها را بررسی کنید.

مقدار تیترکننده استفاده شده در آزمون شاهد همیشه باید بیشتر از صفر میلی‌لیتر باشد. محلول های یک آزمایشگاه باید در طول زمان، ثابت باشند.

۹-۵ آزمون‌های بازیابی

۹-۵-۱ آزمون های عمومی

آزمون‌های بازیابی به طور منظم برای بررسی صحت فرآیندهای جاری و تجهیزات آزمون که در(بندهای ۹-۵-۲ تا ۹-۵-۴)شرح داده شده‌اند، انجام می‌گیرند.

۹-۵-۲ اتلاف ازت

برای این منظور، ۰٫۱۲ گرم آمونیم سولفات طبق (بند ۵-۱۰)و ۰٫۶۷ گرم ساکاروز طبق(بند ۵-۱۳)به هر بالن اضافه کنید. همه واکنشگرهای دیگر که در بند ۹-۳ آمده است را به آن ها اضافه کنید. عمل هضم و تقطیر را در شرایط یکسان با نمونه اصلی انجام دهید. بازیابی باید بیشتر و یا مساوی ٪۹۹کسر جرمی باشد.

۹-۵-۳ راندمان هضم

از حداقل ۰٫۱۵گرم تریپتوفان طبق (بند۵-۱۲-۱) یا استانیلید طبق (بند۵-۱۲-۲) به عنوان آزمون، استفاده کنید. آن را با تقریب ۰٫۱ میلی‌گرم وزن کرده و به آن در حدود ۰٫۷گرم ساکاروز طبق (بند۵-۱۳)، اضافه کنید. میزان ازت آن را بر اساس فرآیند انجام آزمون که در (بند ۹-۳-۱ تا ۹-۳-۳)توصیف شده است، تعیین کنید. میزان بازیابی‌ها برای نمونه تریپتوفان باید بیشتر یا مساوی ٪۹۸٫۵ کسر جرمی و برای استانیلید باید بیشتر یا مساوی ٪۹۹٫۵کسر جرمی باشد.

۹-۵-۴ راندمان تغییر و تیتراسیون

مقدار ۰٫۱گرم تا ۰٫۱۵ گرم آمونیم سولفات طبق(بند ۵-۱۰) یا ۰٫۳تا ۰٫۵ گرم آمونیم آهن(II) سولفات طبق بند ۵-۱۱ را با تقریب ۰٫۰۰۰۱گرم، وزن کنید و در بالن هضم بریزید. مقدار ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه کنید و طبق مراحل نوشته شده در(بندهای ۹-۳-۲ تا ۹-۳-۳)آزمایش را دنبال کنید. میزان بازیابی باید بیشتر و یا مساوی ٪۹۹٫۵کسرجرمی باشد.

۹-۵-۵ محدودیت‌ها

بازیابی‌های کم تر از مقادیر مشخص شده و یا بیشتر از ٪۱۰۱ در هر یک از آزمون‌های بازیابی که در بالا شرح داده شده نشان دهنده خطا در فرآیند آزمون بوده و یا بیان گر نادرست بودن غلظت محلول حجمی استاندارد هیدروکلریک اسید، می‌باشد.

۱۰ محاسبات و بیان نتایج

۱۰-۱ محاسبات

۱۰-۱-۱ محاسبه مقدار ازت

مقدار ازت نمونه، بر اساس درصد وزنی وبا استفاده از فرمول (۱) به شرح زیر محاسبه می شود:

$$w_N = \frac{1{,}4007(V_s - V_b)c_s}{m} \qquad (۱)$$

که در آن:

V_s مقدار عددی محلول حجمی استاندارد هیدروکلریک اسید طبق (بند ۵-۹)مصرف شده برای آزمون نمونه طبق(بند۹-۳)بر حسب میلی‌لیتر که با دقت ۰٫۰۵ میلی‌لیتر بیان می‌شود .

V_b مقدار عددی محلول حجمی استاندارد هیدروکلریک اسید طبق(بند ۵-۹)مصرف شده برای آزمون شاهد طبق(بند ۹-۴)بر حسب میلی‌لیتر که با دقت ۰٫۰۵ میلی‌لیتر بیان می‌شود .

c_s مقدار عددی غلظت دقیق محلول حجمی استاندارد هیدروکلریک اسید طبق (بند ۵-۹)بر حسب مول در لیتر، که با چهار رقم اعشار بیان می‌شود .

m مقدار عددی جرم آزمونه طبق (بند ۹-۲)، بر حسب گرم.

برای گزارش نتایج بر حسب گرم در کیلوگرم، فاکتور عددی ۱٫۴۰۰۷ممکن است در معادله بالا استفاده شود.

۱۰-۱-۲ محاسبه بازیابی نمک‌های آمونیومی

میزان بازیابی آمونیوم سولفات با درجه خلوص ٪۹۹٫۵ ، w_1،با استفاده از فرمول (۲) به شرح زیر محاسبه می شود:

$$w_1 = \frac{w_{N,r}}{21.09} \times 100 \qquad (۲)$$

که در آن:

$w_{N,r}$ ازت بازیافت شده، بر حسب درصد کسر جرمی.

میزان بازیافت آمونیوم آهن (II) سولفات با درجه خلوص٪ ۱۰۰ w_2 وبا استفاده از فرمول (۳) بـه شـرح زیـر محاسبه می شود:

$$w_2 = \frac{w_{N,r}}{7.145} \times 100 \qquad (۳)$$

در محاسبات فرمول های (۲) و (۳) بالا در صورتی که از نمک های آمونیمی با درجه خلوص دیگـر اسـتفاده شود، اصلاحاتی باید انجام گیرد.

۱۰-۲ محاسبه مقدار پروتئین خام

مقدار پروتئین خام، w_p به صورت درصد جرمی، وبا استفاده از فرمول (۴) به شرح زیر محاسبه می شود:

$$w_p = w_N \cdot f_k \qquad (۴)$$

که در آن:

w_N مقدار ازت نمونه است که به صورت کسر جرمی با چهار رقم اعشار بیان می‌شود(۱۱-۱).

f_k فاکتور تبدیل ازت کلدال به پروتئین است، برای خوراک‌های دامی، این فاکتور مساوی با ۶٫۲۵ است.

برای ارائه گزارش مقدار پروتئین نمونه بر حسب گرم در کیلوگرم، نتایج حاصله از معادله بالا باید در عدد ۱۰ ضرب شود.

۱۰-۳ بیان نتایج مقدار پروتئین خام

در صورت نیاز نتایج را با چهار رقم اعشار، بیان کنید. برای نتایج نهایی، اعدادی که مربوط به مقـدار ازت بـه دست آمده می‌باشد را با سه رقم اعشار و نتایج مربوط به پروتئین خام را با دو رقم، اعشار بیان کنید. نتایج به دست آمده نباید هنگام استفاده، بیش از این گرد شوند. این مسئله به ویژه در مواردی که از این نتایج بـرای محاسبات بعدی استفاده می‌شود صادق است.

مثال ۱: برای مثال وقتی مقادیرآزمون‌های به دست آمده بـه منظورمحاسـبه پراکنـدگی بررسـی هـای آمـاری درون و یـا بـین آزمایشگاه ها مورد استفاده قرار می گیرد.

مثال ۲: هنگامی که از این مقادیر برای کالیبره کردن تجهیزات به عنوان مرجع استفاده می‌شود، در ایـن حالـت مقـادیر فـوق برای محاسبات دقیق بعدی در زمینه بررسی رگرسیونی ساده و چند تایی، کاربرد دارد.

۱۱ دقت

۱۱-۱ آزمون درون آزمایشگاهی

جزئیات دقت روش آزمون درون آزمایشگاهی در پیوست به طور خلاصه شرح داده شده است. مقادیر به دست آمده از این آزمون ممکن است برای سایر غلظت ها و ماتریس های ارائه شده قابل استفاده نباشد.

جزئیات آزمون اختصاصی مقایسه روش رنگ سنجی و پتانسیومتری برای تشخیص نقطه پایانی تیتراسیون در پیوست ب شرح داده شده است.

۱۱-۲ تکرارپذیری

اختلاف مطلق حاصل نتایج دو آزمون مستقل از هم که با روش مشابه روی مواد آزمایشی یک سان، در همان آزمایشگاه، توسط همان آزمایش کننده و با استفاده از همان تجهیزات در فاصله زمانی کوتاه به دست می‌آید، نباید در بیشتر از ٪۵ موارد از محدوده تکرارپذیری(r) که از معادله زیر منتج می‌گردد، بیشتر باشد.

$$r = 0.234 + 0.005\overline{w}_p \qquad (۵)$$

که در آن:

$\overline{w}_p$: میانگین نتایج مقدار پروتئین دو آزمون جداگانه، به صورت درصد پروتئین.

۱۱-۳ تکثیرپذیری

اختلاف مطلق حاصل نتایج دو آزمون مستقل از هم که با همان روش، روی مواد آزمونه یک سان در آزمایشگاه های متفاوت، با آزمایش کننده های متفاوت که از تجهیزات متفاوت استفاده کردند، نباید در بیشتر از ٪۵ موارد از محدوده تکثیرپذیری(R) که از معادله زیر منتج می‌گردد، بزرگ تر باشد.

$$R = 0.193 + 0.029\overline{w}_p \qquad \text{فرمول(۶)}$$

۱۲ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی های زیرباشد:

۱۲-۱ تمام اطلاعات مورد نیاز برای شناسایی کامل نمونه؛

۱۲-۲ روش نمونه برداری استفاده شده؛

۱۲-۳ روش انجام آزمون، مطابق با استاندارد ملی ایران شماره۲-۱۰۷۰۳ ؛

۱۲-۴ تمام جزئیات انجام آزمایش که در این استاندارد مشخص نشده است، یا مواردی که به صورت اختیاری انجام گرفته، همراه با جزئیات وقایع یا حوادثی که ممکن است روی نتیجه آزمون موثر باشد؛،

۱۲-۵ نتایج به دست آمده در آزمایش، مقدار ازت (به صورت درصد یا گرم در کیلوگرم) یا مقدار پروتئین خام(به صورت درصد یا گرم در کیلوگرم)، همراه با فاکتور تبدیل ۶٫۲۵؛

۱۲-۶ درصورتی که تکرارپذیری بررسی شده است، در پایان گزارش نتایج به دست آمده را اعلام کنید؛

۱۲-۷ در صورتی که بازیابی بررسی شده است، در پایان گزارش نتایج به دست آمده را اعلام کنید؛

۱۲-۸ تاریخ انجام آزمون؛،

۱۲-۹ نام و نام خانوادگی و امضای آزمون کننده.

پیوست الف

(اطلاعاتی)

نتایج آزمون درون آزمایشگاهی

اولین آزمون درون آزمایشگاهی روش هضم و تقطیر برای تعین نقطه پایانی از سوی AOAC بـین‌المللـی در سال ۲۰۰۱ سامان دهی شد و مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۴، درستی(صـحت و دقت)روش ها و نتایج اندازه گیری-قسمت دوم:روش پایه برای تعیین تکرارپذیری و تجدیدپذیری روش اندازه گیری استاندارد انجام شد. در این آزمون تعداد سیزده آزمایشگاه از آمریکای شمالی و اروپـا سـهیم هسـتند. چهارده نمونه نامشخص مورد بررسی قرار گرفتند که شامل پـودر گوشـت و اسـتخوان، غـذای سـگ، غـذای چینچیلا، خوراک دانه‌های طیور، سویا، سیلوی ذرت سبز ریز شده، علوفه خشک، یونجـه خشـک، جـایگزین شیر، آلبومین، پلت خوک، دانه آفتابگردان، بلوک پروتئین(همراه با اوره) و پودر مـاهی بـه (جـدول الـف ۱، مراجعه کنید).

بازیابی ازت از ترکیبات استاندارد، ۱۰۰/۱ درصد برای استانیلید و ۹۸/۸ درصد برای تریپتوفان بود.

جدول الف - ۱ - نتایج آزمون بین آزمایشگاهی

پارامتر	نمونه						
	۱ بلوک پروتئین	۲ پلت خوکی	۳ سیلوی ذرت	۴ علف خشک	۵ پودر ماهی	۶ غذای سگ	۷ خوراک چینچیلا
تعداد آزمایشگاه های باقی مانده پس از حذف موارد پرت	۱۱	۱۱	۱۳	۱۲	۱۲	۱۲	۱۰
میانگین محتوی پروتئین خام بر حسب ٪w_p	۴۰٫۲۰	۳۷٫۰۰	۷٫۱۰	۷٫۱۰	۶۴٫۶۰	۲۴٫۵۰	۱۸٫۱۰
٪(Sr) انحراف استاندارد تکرارپذیری درصد پروتئین خام	۰٫۲۰	۰٫۲۰ ۰٫۵۰	۰٫۲۰	۰٫۱۰	۰٫۵۰	۰٫۲۰	۰٫۲۰
انحراف استاندارد نسبی تکرارپذیری٪	۰٫۴۰	۰٫۵۰	۱٫۹۰	۱٫۹۰	۰٫۷۰	۰٫۸۰	۰٫۸۰
٪ r (=2.8 s_r)حد تکرارپذیری پروتئین خام	۰٫۵۰		۰٫۴۰	۰٫۴۰	۱٫۳۰	۰٫۶۰	۰٫۴۰
Horwitz ratio HorRat [a]	۰٫۳	۰٫۳	۱٫۰	۱٫۰	۰٫۵	۰٫۵	۰٫۵
٪(S_R) انحراف استاندارد تکثیرپذیری درصد پروتئین خام	۰٫۳۰	۰٫۲۰	۰٫۲۰	۰٫۱۰	۰٫۷۰	۰٫۲۰	۰٫۲۰
انحراف استاندارد نسبی تکثیرپذیری ٪	۰٫۷۰	۰٫۶۰	۲٫۷۰	۱٫۹۰	۱٫۰۰	۰٫۴۰	۰٫۸۰
٪ r (2.8 S_R) حد تکثیرپذیری پروتئین خام	۰٫۸۰	۰٫۶۰	۰٫۵۰	۰٫۴۰	۱٫۹۰	۰٫۶۰	۰٫۴۰
Horwitz ratio HorRat [a]	۰٫۳	۰٫۲	۰٫۹	۰٫۶	۰٫۵	۰٫۴	۰٫۳

جدول الف – ۱ – نتایج آزمون بین آزمایشگاهی

جدول الف-۱ (ادامه)

پارامتر	نمونه ۸ آلبومین	۹ خوراک طیور	۱۰ پوره خون و استخوان	۱۱ جایگزین شیر	۱۲ سویا	۱۳ بذرآفتا بگردان	۱۴ علوفه گلوم
تعداد آزمایشگاه های باقی مانده پس از حذف موارد پرت	۱۱	۱۲	۱۲	۱۲	۱۱	۱۲	۱۲
میانگین محتوی پروتئین خام بر حسب ٪ w_p	۷۹٫۱۰	۱۳٫۵۰	۵۰٫۱۰	۲٫۸۰	۳۸٫۸۰	۱۷٫۴۰	۱۸٫۸۰
٪(Sr) انحراف استاندارد تکرارپذیری پروتئین خام	۰٫۳۰	۰٫۱۰	۰٫۹۰	۰٫۳۰	۰٫۴۰	۰٫۴۰	۰٫۳۰
انحراف استاندارد نسبی تکرارپذیری ٪	۰٫۴۰	۰٫۸۰	۱٫۸۰	۱٫۳۰	۰٫۹۰	۲٫۳۰	۱٫۴۰
حد r (=2.8 Sr) ٪ تکرارپذیری پروتئین خام	۰٫۹۰	۰٫۳۰	۲٫۶۰	۰٫۸۰	۱٫۰۰	۱٫۱۰	۰٫۷۰
Horwitz ratio HorRat [a]	۰٫۳	۰٫۵	۱٫۳	۰٫۸	۰٫۶	۱٫۳	۰٫۸
٪(S_R) انحراف استاندارد تکثیرپذیری پروتئین خام	۰٫۴۰	۰٫۲۰	۰٫۹۰	۰٫۳۰	۰٫۴۰	۰٫۴۰	۰٫۳۰
انحراف استاندارد نسبی تکثیرپذیری ٪	۰٫۵۰	۱٫۳۰	۱٫۸۰	۱٫۳۰	۱٫۰۰	۲٫۳۰	۱٫۴۰
حد r (2.8 S_R)٪ تکثیرپذیری پروتئین خام	۱٫۰۰	۰٫۵۰	۲٫۶۰	۰٫۸۰	۱٫۰۰	۱٫۱۰	۰٫۷۰
Horwitz ratio HorRat [a]	۰٫۲	۰٫۵	۰٫۸	۰٫۵	۰٫۴	۰٫۹	۰٫۵

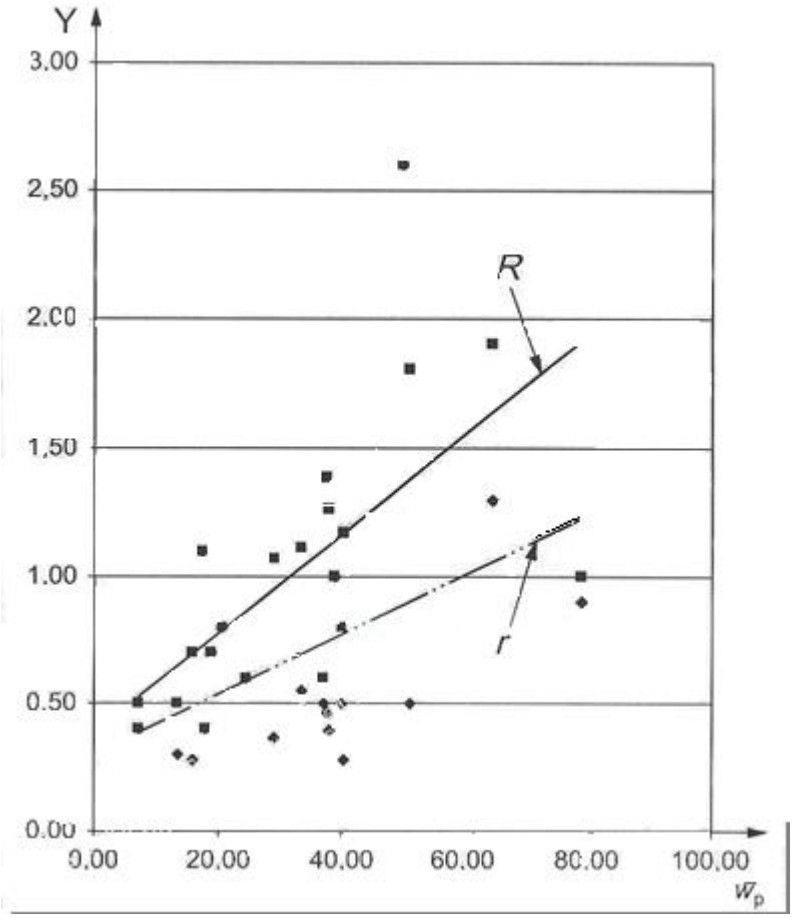
[a] مقدار هرت ۱ معمولا نشان دهنده دقت قابل قبول است، در حالی که مقدار بزرگتر از ۲ نشان دهنده دقت غیر قابل قبول است. مثلا"تفاوت بیش از اندازه برای اکثر مصارف آزمایشگاهی یا هنگامی که تفاوت حاصل در روش کار بکار رفته بیش از حد انتظار باشد.

دومین آزمون درون آزمایشگاهی تشخیص نقطه پایانی رنگ سنجی در سال ۲۰۰۴ در تایلند و مطابق با مشارکت ۲۶ آزمایشگاه و مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۴، درستی(صحت و دقت)روشها و نتایج اندازه گیری-قسمت دوم : روش پایه برای تعیین تکرارپذیری و تجدیدپذیری روش اندازه گیری استاندارد انجام شد. ۷ نمونه مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج درجدول الف-۲ آورده شده است.

جدول الف - ۲ - نتایج آزمون بین آزمایشگاهی

پارامتر	نمونه[a]						
	۱ خوراک ماهی، پلت کوچک شناور	۲ خوراک ماهی، پلت بزرگ شناور	۳ خوراک میگو، خرده مواد غذایی	۴ خوراک میگو ، پلت بزرگ شناور	۵ خوراک میگو، پلت کوچک شناور	۶ خوراک لارو،ورقه مانند	۷ دانه گندم
تعداد آزمایشگاه های باقی مانده س از حذف موارد پرت	۲۴	۲۴	۲۴	۲۵	۲۶	۲۶	۲۵
میانگین محتوی پروتئین خام بر حسب ٪ w_p	۳۳٫۶۵	۲۹٫۱۸	۴۰٫۴۸	۳۷٫۷۳	۳۸٫۰۴	۵۱٫۰۷	۱۵٫۷۶
٪ (Sr)انحراف استاندارد تکرارپذیری پروتئین خام	۰٫۲۰	۰٫۱۳	۰٫۱۰	۰٫۱۷	۰٫۱۴	۰٫۱۸	۰٫۱۰
انحراف استاندارد نسبی تکرارپذیری٪	۰٫۵۸	۰٫۴۴	۰٫۲۴	۰٫۴۴	۰٫۳۷	۰٫۳۵	۰٫۶۳
٪ (2.8 Sr) rحد تکرارپذیری پروتئین خام	۰٫۵۵	۰٫۳۶	۰٫۲۸	۰٫۴۶	۰٫۳۹	۰٫۵۰	۰٫۲۸
Horwitz ratio HorRat	۰٫۳۸	۰٫۲۸	۰٫۱۶	۰٫۲۹	۰٫۲۴	۰٫۲۴	۰٫۳۶
٪(S_R) انحراف استاندارد تکثیرپذیری پروتئین خام	۰٫۴۰	۰٫۳۸	۰٫۴۲	۰٫۴۹	۰٫۴۵	۰٫۶۴	۰٫۲۵
انحراف استاندارد نسبی تکثیرپذیری٪	۱٫۱۸	۱٫۳۱	۱٫۰۳	۱٫۳۱	۱٫۱۸	۱٫۲۶	۱٫۵۹
٪ (2.8 S_R) rحد تکثیرپذیری پروتئین خام	۱٫۱۱	۱٫۰۷	۱٫۱۷	۱٫۳۸	۱٫۲۶	۱٫۸۰	۰٫۷۰
Horwitz ratio HorRat	۰٫۵۰	۰٫۵۴	۰٫۴۵	۰٫۵۶	۰٫۵۱	۰٫۵۷	۰٫۶۰

[a] روش نمونه برداری مطابق استاندارد ایزو۶۴۹۷



w_p میانگین محتوی پروتئین خام بر صد درصد چربی

Y درصد جرمی مقدار دقت

◆ r حد تکرارپذیری $r = 0.005\ w_p + 0.234$

■ R حد تکثیرپذیری $R = 0.029\ w_p + 0.193$

شکل الف-۱ - ارتباط بین مقادیردقت و میانگین مقدار پروتئین خام

پیوست (ب)

(اطلاعاتی)

نتایج آزمون تخصصی، مقایسه روش رنگ سنجی و پتا نسیومتری جهت تشخیص نقطه پایانی از عیار سنجی

نتایج آزمون تخصصی مقایسه ای تیتراسیون دو روش رنگ سنجی و پتانسیومتری برای تعیین نقطه پایانی برای انواع خوارک ها انجام گردید. نتایج جدول ب - ۱ نشان می دهد هر دو روش نتایج یکسان جهت تشخیص نقطه پایانی می باشند.

جدول ب-۱ - ارزیابی آماری از نتایج آزمون تخصصی

پارامتر	نمونه					
	۱ خوراک گربه	۲ خوراک گربه	۳ ذرت	۴ ذرت	۵ کنجاله سویا	۶ خوراک خوک
تشخیص رنگ سنجی						
میانگین محتوی پروتئین خام بر حسب $w_{p.col}$ ٪	۲۹٫۸	۲۹٫۷	۹٫۲	۹٫۲	۴۲٫۲	۱۶٫۰
استاندارد انحراف بر حسب کسر جرمی٪ S_{col}	۰٫۳۸	۰٫۳۳	۰٫۱۷	۰٫۱۳	۰٫۶۳	۰٫۲۴
N_{col}	۲۴	۲۴	۲۵	۲۵	۲۵	۲۲
تشخیص پتانسیومتری						
میانگین محتوی پروتئین خام بر حسب $w_{p.pot}$ ٪	۲۹٫۹	۲۹٫۹	۹٫۳	۹٫۲	۴۲٫۳	۱
استاندارد انحراف بر حسب کسر جرمی ٪s_{pot}	۰٫۲۵	٫۴۳	۰٫۱۳	۰٫۱۵	۰٫۶۰	۰٫۲۱
N_{pot}	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۵	۱۵
آزمون جهت تساوی واریانس						
F	۲٫۲۸	۱٫۶۵	۱٫۷۶	۱٫۳۰	۱٫۱۱	۱٫۳۹
F_{crit}	۲٫۴۳	۲٫۱۸	۲٫۴۲	۲٫۱۵	۲٫۳۵	۲٫۳۸

جدول ب-۱ (ادامه)

اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	**نتیجه گیری**
آزمون جهت تساوی میانگین						
۰/۱۲	۰/۵۵	۰/۸۵	۰/۴۸	۱/۴۰	۰/۹۴	t_{stat}
۲/۰۳	۲/۰۲	۲/۰۳	۲/۰۳	۲/۰۳	۲/۰۳	t_{crit}
اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	اختلاف غیر قابل ملاحظه	**نتیجه گیری**
یادآوری- میزان اهمیت = ۵٪ ; $F_{crit} > F$ = تفاضل اهمیت ; $t_{crit} > t_{stat}$ = تفاضل اهمیت						