|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ankom Technology Метод 9 |  | 08-16-06 |
| **Определение нейтрально-детергентной клетчатки (NDF) в кормах****с использованием технологии фильтровальных пакетиков**(для A2000 и A2000I) |
| **ОПРЕДЕЛЕНИЕ**Настоящий метод позволяет определять нейтрально-детергентную клетчатку (NDF), под которой понимается остаток после дигерирования образца. Данный остаток представляет собой преимущественно гемицеллюлозу, целлюлозу и лигнин.**ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**Данный метод применим зерну, кормам, комбикормам и к другим материалам, содержащим клетчатку. |
| **ОБОРУДОВАНИЕ**1. Аналитические весы с дискретностью 0.1 мг.
2. Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 102 ± 2°C.
3. Оборудование для дигерирования, способное проводить дигерирование при температуре 100 ± 0.5°C и поддерживать давление в пределах 10-25 psi (0.7-1.7 атм). Оборудование также должно быть способно поддерживать равномерный поток раствора вокруг каждого образца для обеспечения однородности экстракции. (ANKOM 2000, ANKOM Technology).
4. Фильтровальные пакетики, изготовленные из химически инертного и термоустойчивого фильтрующего материала, которые можно герметично запаивать и которые могут удерживать частицы до 25 микрон, свободно пропуская при этом раствор (F57 или F58, ANKOM Technology, *Примечание пункт 1*).
5. Устройство запаивания пакетиков, способное надёжно запаивать фильтровальные пакетики (1915, ANKOM Technology).
6. Эксикаторная сумка. Герметично закрывающаяся сумка с поглотителем влаги, позволяющим поглощать водяные пары из воздуха вокруг фильтровальных пакетиков (сумка MoistureStop, ANKOM Technology).
7. Маркер, устойчивый к воздействию растворителей и кислот (F08, ANKOM Technology).

**РЕАКТИВЫ**1. Нейтрально-детергентный раствор: добавьте 30 грамм додецилсульфата натрия (USP), 18.61 грамм двухводной двунатривой соли этилен-диаминтетрауксусной кислоты, 6.81 грамм тетраборнокислого натрия (буры), 4.56 грамм натрия фосфорнокислого двузамещенного, безводного и 10 мл триэтиленгликоля в 1 литр дистиллированной воды (готовый химический раствор можно приобрести в компании ANKOM Technology). Проверьте, что pH находится в диапазоне 6.9 – 7.1. Перемешайте и нагрейте раствор для лучшей растворимости (см. *Меры предосторожности*).
2. Альфа-амилаза. Термостабильная бактериальная альфа-амилаза, активность 17 400 единиц/мл (FAA, ANKOM Technology).
3. Сульфат натрия Na2SO3, безводный (FSS, ANKOM Technology).

**ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА К АНАЛИЗУ**Измельчите образец в лабораторной центробежной мельнице с ситом с отверстиями диаметром 2 мм или в ножевой мельнице (системы Wiley) с ситом с отверстиями диаметром 1 мм. У более тонко размолотых образцов может происходить потеря частиц сквозь ткань пакетика, что будет приводить к занижению результатов анализа.**МЕТОДИКА РАБОТЫ**1. С помощью устойчивого к действию растворителей и кислот маркера пронумеруйте фильтровальные пакетики. Взвесьте каждый фильтровальный пакетик (**W1**) и затем установите весы на ноль.*Примечание:* не высушивайте предварительно фильтровальные пакетики. Холостой опыт с пустым пакетиком (бланк) позволит внести поправку на влажность материала пакетика.
2. Взвесьте 0.45–0.55 грамм подготовленного образца (**W2**) непосредственно в пакетике. Избегайте попадания образца ближе 4 мм от верхнего края пакетика.
3. С помощью устройства для запайки пакетиков надёжно запаяйте фильтровальный пакетик так, чтобы шов располагался примерно в 4 мм от края. Обеспечьте достаточный для полной герметизации пакетика нагрев и дайте ему остыть в течение 2 секунд.
4. Взвесьте один пустой пакетик и включите его в анализируемую партию образцов для определения корректирующего фактора **C1** *(Примечание пункт 1)*.
5. **Подвергайте предварительному экстрагированию только образцы, содержащие продукты из сои или продукты с содержанием жира более 5%:** Чтобыпровести экстрагирование, поместите 24 пакетика с образцами в контейнер, залейте достаточным количеством ацетона так, чтобы покрыть пакетики и закрепите верхнюю секцию. Встряхните контейнер 10 раз и дайте пакетикам замачиваться в течение 10 минут. Повторите процедуру со свежим ацетоном. Слейте ацетон и поместите пакетики на поддон из проволочной сетки, чтобы дать им просохнуть до воздушно-сухого состояния. **Исключение – обжаренные соевые бобы:** вследствие того, что соевые бобы подвергаются обработке обжариванием, процесс экстрагирования следует изменить. Поместите образцы обжаренных соевых бобов в контейнер. Залейте достаточное количество ацетона, чтобы покрыть образцы и закрепите верхнюю секцию. Встряхните контейнер 10 раз и слейте ацетон. Добавьте свежий ацетон и замачивайте образцы в течение двенадцати часов. После замачивания слейте ацетон и поместите пакетики на поддон из проволочной сетки для просушки до воздушно-сухого состояния.
6. Поместите не более 24 пакетиков в держатель. Независимо от числа используемых пакетиков, следует использовать все девять секций держателя. Разместите по три пакетика в каждой секции и затем наденьте все секции на центральный стержень, поворачивая каждую секцию на 120° относительно предыдущей. Вставьте держатель с пакетиками в реакционный сосуд анализатора и поместите сверху на пустую девятую секцию груз-утяжелитель так, чтобы держатель оставался в погруженном состоянии.*Примечание:* перед помещением держателя в анализатор, убедитесь, что сосуд остыл после предыдущего анализа. Если сосуд ещё тёплый, заполните его холодной водой, а затем слейте её.
7. Следуйте указаниям на дисплее анализатора ANKOM 2000:
* Выберите режим **NDF** (нейтрально-детергентная клетчатка),
* Закройте крышку,
* Убедитесь, что включена подача горячей воды (>70°C),
* Нажмите **START**.
* После того, как будет добавлен нейтрально-детергентный раствор и начнется перемешивание, вручную добавьте 20 грамм Na2SO3 и 40 мл альфа-амилазы.
* Закройте крышку.
1. Присоедините дозатор амилазы к порту **B** и заполните его раствором 8 мл альфа-амилазы и 350 мл дистиллированной воды. Анализатор ANKOM 2000 автоматически добавит этот раствор к первой и второй промывке.
2. Когда процессы экстрагирования и промывки будут завершены и анализ закончится, откройте крышку и удалите образцы. Осторожно отожмите избыточную влагу из пакетиков. Поместите пакетики в лабораторный стакан на 250 мл добавьте достаточное количество ацетона так, чтобы все пакетики были покрыты жидкостью и оставьте намокать на 3-5 минут.
3. Выньте пакетики из ацетона и поместите на проволочную сетку для высушивания до воздушно-сухого состояния. Окончательное высушивание проводите в сушильном шкафу при температуре 102 ± 2°C (сушка в большинстве шкафов обычно занимает 2-4 часа).*Примечание:* непомещайте пакетики в сушильный шкаф до тех пор, пока ацетон не испарится полностью.
4. Выньте пакетики из сушильного шкафа, и сразу же поместите их в складную эксикаторную сумку. Удалите из сумки воздух путём проглаживания (сплющивания). Охладите до комнатной температуры и взвесьте пакетики (**W3**).*Примечание:* не используйте обычный эксикатор.

**РАСЧЁТЫ**$$Нейтрально-детергентная клетчатка (NDF)=\frac{W\_{3}-W\_{1}∙C\_{1}}{W\_{2}}∙100, \%$$где: ***W1*** *вес пустого пакетика,****W2*** *вес образца,****W3*** *вес пакетика с клетчаткой после экстракции,****С1*** *корректирующий фактор (вес пакетика после окончательной сушки, делённая на первоначальную массу пакетика).***МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**Порошкообразные химикаты раздражают слизистые оболочки. При работе с этими реактивами используйте пылезащитную маску и перчатки.Ацетон чрезвычайно огнеопасен. Избегайте накопления статического электрического заряда и работайте с ним под тягой.**ПРИМЕЧАНИЯ**1. При расчёте содержания клетчатки следует использовать корректирующий фактор (***C1***), полученный с помощью скользящего среднего. Включение пустого пакетика в каждую серию анализируемых образцов используется главным образом для обнаружения потери частиц образца. Фактор ***С1*** превышающий 1.0000 указывает на то, что часть материала образца была потеряна из фильтровального пакетика и отложилась на пустом пакетике. Любая потеря частиц образца из фильтровального пакетика приведёт к ошибочным результатам анализа. Если действительно наблюдается потеря частиц, то следует пересмотреть метод размола образца.
 |