|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ankom Technology Метод 10, 12-06-06 |  | AOCS Ba 6a-05 |
| **Определение сырой клетчатки в кормах****с использованием технологии фильтровальных пакетиков**(для A2000 и A2000I) |
| **ОПРЕДЕЛЕНИЕ**Настоящий метод позволяет определять сырую клетчатку, под которой понимается органический остаток после обработки образца 0.255N H2SO4 и 0.313N NaOH. Удаляемые вещества представляют собой преимущественно белки, сахара, крахмал, липиды и частично структурные углеводы и лигнин.**ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**Данный метод применим ко всем видам кормов, в том числе к зерну, шротам, кормам для домашних животных, комбикормам, грубым кормам и к таким масличным семенам как кукуруза и соя. |
| **ОБОРУДОВАНИЕ**1. Аналитические весы с дискретностью 0.1 мг.
2. Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 102 ± 2°C.
3. Электрическая муфельная печь с системой регулировки и контроля, способная поддерживать температуру 600 ± 15°C.
4. 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).
5. 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*).
6. Устройство запаивания пакетиков, способное надёжно запаивать фильтровальные пакетики (1915, ANKOM Technology).
7. Эксикаторная сумка. Герметично закрывающаяся сумка с поглотителем влаги, позволяющим поглощать водяные пары из воздуха вокруг фильтровальных пакетиков (сумка MoistureStop, ANKOM Technology).
8. Маркер, устойчивый к воздействию растворителей и кислот (F08, ANKOM Technology).

**РЕАКТИВЫ**1. Раствор серной кислоты 0.255 ± 0.005N. 1.25 грамм H2SO4/100 мл. Концентрация должна быть проверена титрованием (см. «*Меры предосторожности*»).
2. Раствор гидроокиси натрия 0.313 ± 0.005N. 1.25 грамм NaOH/100 мл. Концентрация должна быть проверена титрованием (см. *Меры предосторожности*).

**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 0.95–1.00 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 2)*.
5. Экстрагируйте жир из образцов, замочив на 10 минут в петролейном эфире все пакетики. Используйте ёмкость объемом 250 мл. Пакетики должны находились ниже уровня жидкости. Слейте растворитель и дайте пакетикам высохнуть до воздушно-сухого состояния. Распределите каждый образец равномерно по пакетику, потряхивая и слегка постукивая пакетик, так чтобы внутри не было комков.
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 **Crude Fiber** (Сырая клетчатка),
* Закройте крышку,
* Убедитесь, что включена подача горячей воды (>70°C),
* Нажмите **START**.
1. 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.
2. 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.
3. 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.*Примечание:* не используйте обычный эксикатор.
4. Озолите полностью пакетик вместе с образцом в предварительно взвешенном тигле в течение 2 часов при температуре 600 ± 15°С, охладите в эксикаторе и взвесьте, чтобы определить потерю массы органического вещества (**W3**).

**РАСЧЁТЫ**$$Сырая клетчатка=\frac{W\_{3}-W\_{1}∙C\_{1}}{W\_{2}}∙100, \%$$где: ***W1*** *вес пустого пакетика,****W2*** *вес образца,****W3*** *вес органического вещества (потеря массы вследствие сгорания пакетика и клетчатки),****С1*** *корректирующий фактор (потеря веса при сгорании пустого пакетика, делённая на первоначальную массу пакетика).***МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**Серная кислота относится к сильным кислотам и может вызывать серьёзные ожоги. При работе с этой кислотой следует использовать защитную спецодежду. При необходимости разбавления концентрированной серной кислоты всегда приливайте кислоту к воде и никогда наоборот.Гидроокись натрия NaOH может вызывать серьёзные ожоги кожи, глаз и дыхательных путей. При работе с этой щёлочью следует использовать защитную спецодежду. При растворении этого реактива всегда добавляйте его к воде, а не наоборот.Петролейный эфир и ацетон чрезвычайно огнеопасны. Избегайте накопления статических электрических зарядов. Работать с петролейным эфиром или ацетоном следует всегда под тягой.**ПРИМЕЧАНИЯ**1. Фильтровальные пакетики F57 могут при анализе тонкоразмолотых образцов давать результат, заниженный до 0.5%. Тонкоразмолотыми образцами считаются образцы с частицами клетчатки менее 25 микрон.
2. 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.
 |