

Obsah olejů a tuků se vypočte jako procento vzorku podle tohoto vzorce:

$$(10 m_1 + m_2) \times 5$$

kde:

m_1 = hmotnost zbytku po první extrakci v gramech (aliquotní části extraktu),

m_2 = hmotnost zbytku po druhé extrakci v gramech.

- 8.2. U některých produktů (např. s nízkým obsahem olejů a tuků) se může hmotnost zkušební vzorku zvýšit.
- 8.3. Krmivo pro zvířata v zájmovém chovu, které má vysoký obsah vody, je třeba před hydrolýzou a extrakcí podle postupu B smíchat s bezvodým síranem sodným.
- 8.4. V bodě 5.2 může být účinnější při promývání filtračního zbytku použít horkou vodu místo studené.
- 8.5. U některých krmiv může být zapotřebí prodloužit dobu sušení nad 1,5 hod. Je však třeba zamezit přílišnému vysušení, které může vést k nižším výsledkům. Lze použít i mikrovlnnou sušárnu.

H. STANOVENÍ OBSAHU HRUBÉ VLÁKNINY

1. Účel a oblast použití

Tato metoda umožňuje stanovit v krmivu obsah tukuprostých organických látek, které jsou nerozpustné v roztoku kyseliny a zásady a jsou běžně nazývány hrubá vlákna.

Tato metoda není použitelná v případě lignocelulózy a rostlinného uhlí (příliš jemné částice).

2. Princip

Vzorek se v případě potřeby odtuční a působí se na něj postupně vroucím roztokem kyseliny sírové a hydroxidu draselného o přesně stanovené koncentraci. Zbytek se oddělí filtrací přes skleněný filtrační kelímek, promyje, vysuší, zváží a spálí při teplotě 475–500 °C. Úbytek váhy po spálení odpovídá obsahu hrubé vlákniny ve zkušebním vzorku.

3. Činidla

- 3.1. Kyselina sírová, $c = 0,13 \text{ mol/l}$.
- 3.2. Odpěňovací činidlo (např. n-oktanol).
- 3.3. Filtrační pomůcka (Celite 545 nebo obdobná) žíhaná při 500 °C po čtyři hodiny (bod 8.6).
- 3.4. Aceton.
- 3.5. Petrolether, bod varu 40–60 °C.
- 3.6. Kyselina chlorovodíková, $c = 0,5 \text{ mol/l}$.
- 3.7. Roztok hydroxidu draselného, $c = 0,23 \text{ mol/l}$.

4. Přístroje

- 4.1. Zahřívací jednotka pro mineralizaci roztokem kyseliny sírové a hydroxidu draselného, s oporou pro filtrační kelímek (bod 4.2) a vybavená vypouštěcí trubicí s ventilem na vypouštění kapaliny a vakuu, popřípadě stlačený vzduch. Každý den se zařízení před použitím pět minut předeřívá vroucí vodou.
- 4.2. Skleněný filtrační kelímek s porézní vložkou (fritou) ze slinutého skla o velikosti pórů 40–90 μm. Před prvním použitím se kelímek několik minut zahřeje na 500 °C a potom vychladí (bod 8.6).

- 4.3. Hydrolyzační nádobka o objemu nejméně 270 ml se zpětným chladičem, vhodná pro vaření.
- 4.4. Sušárna s regulací teploty.
- 4.5. Muflová pec s regulací teploty.
- 4.6. Extrakční jednotka s oporou pro filtrační kelímek (bod 4.2) vybavená vypouštěcí trubicí s ventilem na vypouštěné kapaliny a vakuum.
- 4.7. Spojovací kroužky pro spojení zahřívací jednotky (bod 4.1), filtračního kelímku (bod 4.2) a hydrolyzační nádobky (bod 4.3) a pro připojení kelímku ke studené extrakční jednotce (bod 4.6).

5. Postup

Do filtračního kelímku (bod 4.2) se naváží 1 g připraveného vzorku s přesností na 1 mg (viz poznámky v bodech 9.1, 9.2 a 9.3) a přidá se 1 g filtrační pomůcky (bod 3.3).

Filtrační kelímek (bod 4.2) se připojí k zahřívací jednotce (bod 4.1) a poté k hydrolyzační nádobce (bod 4.3). Do spojené hydrolyzační nádobky a filtračního kelímku se nalije 150 ml vroucího roztoku kyseliny sírové (bod 3.1) a v případě potřeby se přidá několik kapek odpěňovacího činidla (bod 3.2).

Kapalina se přivede během 5 ± 2 minut do varu a intenzivně se vaří přesně 30 minut.

Otevře se vypouštěcí ventil (bod 4.1) a kyselina sírová se odsaje za použití vakua přes filtrační kelímek a zbytek se promyje třikrát 30 ml vroucí vody, vždy do úplného odsátí po každém promytí.

Vypouštěcí ventil se uzavře, přidá se 150 ml vroucího roztoku hydroxidu draselného (bod 3.7) do spojené hydrolyzační nádobky a filtračního kelímku a přidá se několik kapek odpěňovacího činidla (bod 3.2). Kapalina se přivede během 5 ± 2 minut do varu a intenzivně se vaří přesně 30 minut. Přefiltruje se a zopakuje se promývání jako u kyseliny sírové.

Po skončení promývání a odsávání se filtrační kelímek se svým obsahem odpojí a připojí se ke studené extrakční jednotce (bod 4.6). Za použití vakua se zbytek promyje ve filtračním kelímku třikrát 25 ml acetonu (bod 3.4), vždy do úplného odsátí po každém promytí.

Filtrační kelímek se vysuší do konstantní hmotnosti v sušárně při teplotě 130 °C. Po každém vysušení a ochlazení v exsikátoru se vždy rychle zváží. Filtrační kelímek se vloží do muflové pece a spaluje při 475–500 °C nejméně 30 minut do konstantní hmotnosti (úbytek hmotnosti mezi dvěma po sobě následujícími váženími nesmí být větší než 2 mg).

Po každém spalování a ochlazení nejprve v peci a potom v exsikátoru se zváží.

Provede se slepá zkouška bez zkoušeného vzorku. Úbytek hmotnosti po spalování nesmí být větší než 4 mg.

6. Výpočet výsledků

Obsah hrubé vlákniny jako procento vzorku se vypočte podle tohoto vzorce:

$$X = \frac{(m_0 - m_1) \times 100}{m}$$

kde:

- m = hmotnost vzorku v g,
 m_0 = úbytek hmotnosti po spálení při vlastním stanovení v g,
 m_1 = úbytek hmotnosti po spálení při slepé zkoušce v g.

7. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou paralelních stanovení provedených u téhož vzorku nesmí překročit:

- 0,6 % v absolutní hodnotě u obsahu hrubé vlákniny nižšího než 10 %,
- 6 % relat. z hodnoty vyššího výsledku u obsahu hrubé vlákniny 10 % a více.

8. Reprodukovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených u téhož vzorku v různých laboratořích nesmí překročit:

- 1,0 % v absolutní hodnotě u obsahu hrubé vlákniny nižšího než 10 %,
- 10 % relat. z hodnoty vyššího výsledku u obsahu hrubé vlákniny 10 % a více.

9. Poznámky

- 9.1. Krmiva, která obsahují více než 10 % hrubého tuku, musí být před analýzou odtučněna petroletherem (bod 3.5). Filtrační kelímek (bod 4.2) s obsahem se připojí ke studené extrakční jednotce (bod 4.6) a zbytek se za použití vakua promyje třikrát 30 ml petroletheru, vždy do úplného odsátí. Potom se kelímek se svým obsahem připojí k zahřívací jednotce (bod 4.1) a pokračuje se podle bodu 5.
- 9.2. Krmiva obsahující tuk, který nelze přímo extrahovat petroletherem (bod 3.5), musí být odtučněna podle bodu 8.1 a potom ještě jednou po varu s kyselinou. Po varu s kyselinou a následném promytí se filtrační kelímek se svým obsahem připojí ke studené extrakční jednotce (bod 4.6) a promyje se třikrát 30 ml acetonu a následně třikrát 30 ml petroletheru. Odsaje se do sucha za použití vakua a pokračuje se ve zkoušce podle bodu 5 od přidání hydroxidu draselného.
- 9.3. Pokud krmivo obsahuje více než 5 % uhličitánů vyjádřených jako uhličitan vápenatý, připojí se filtrační kelímek (bod 4.2) s naváženým vzorkem k zahřívací jednotce (bod 4.1). Vzorek se promyje třikrát 30 ml kyseliny chlorovodíkové (bod 3.6). Po každém přidání kyseliny se filtruje po minutové prodlevě. Nakonec se promyje 30 ml vody a pokračuje se podle bodu 5.
- 9.4. Pokud se používá přístroj ve formě stojanu (několik filtračních kelímků je připojeno k jedné zahřívací jednotce), nesmí se provádět dvě paralelní stanovení u téhož vzorku ve stejné sérii.
- 9.5. Pokud je po varu obtížné kyselé a zásadité roztoky přefiltrovat, použije se stlačený vzduch z odvodní trubice zahřívací jednotky a potom se pokračuje ve filtraci.
- 9.6. Teplota spalování nesmí přesáhnout 500 °C, aby se prodloužila životnost skleněných filtračních kelímků. Během zahřívání a ochlazování nesmí být kelímky vystaveny nadměrnému teplotnímu šoku.

I. STANOVENÍ OBSAHU CUKRŮ

1. Účel a oblast použití

Tato metoda umožňuje stanovení obsahu redukujících cukrů a celkového obsahu cukrů po inverzi vyjádřených jako glukóza nebo v příslušném případě sacharóza s použitím faktoru 0,95. Je použitelná pro krmné směsi. Pro ostatní krmiva jsou používány zvláštní metody. Je-li to nutné, může být obsah laktózy měřen zvlášť a potom zahrnut do celkového výsledku.

Tato metoda se použije pro stanovení obsahu cukrů pro výpočet energetické hodnoty krmiva.

Má-li být obsah cukrů stanoven pro jiné účely, lze použít jiné metody analýzy.

2. Princip

Cukry se vyextrahují zředěným ethanolem. Roztok se vyčerí Carrezovými činidly I a II. Ethanol se odstraní a množství cukrů před inverzí a po inverzi se stanoví Luff-Schoorlovou metodou.

3. Činidla

- 3.1. Roztok ethanolu 40 % (v/v), hustota: 0,948 g/ml při 20 °C, neutralizovaný na fenolftalein.