	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10068.1 – Stanovení obsahu vlákniny	Revize	0

STANOVENÍ OBSAHU VLÁKNINY

1 Účel a rozsah

Tato metoda umožňuje stanovit v krmivu organické látky, které neobsahují tuk, jsou nerozpustné v roztoku kyseliny a hydroxidu a běžně se nazývají vláknina.


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 (475 – 500) °C. Úbytek hmotnosti po spálení odpovídá obsahu vlákniny ve zkoušeném vzorku.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Kyselina sírová, H₂SO₄, 96%, ρ(H₂SO₄) = 1,84 g/ml.
- 2 Kyselina sírová, c(H₂SO₄) = 0,13 mol/l.
Příprava: V 1000ml odměrné baňce se k asi 500 ml vody (10) přidá 7,2 ml H₂SO₄ (1) a po ochlazení se doplní vodou (10) po značku.
- 3 Odpěňovací činidlo, např. n-oktanol.
- 4 Aceton, CH₃COCH₃.
- 5 Petrolether, bod varu (40 – 60) °C.
- 6 Kyselina chlorovodíková, HCl, 35%, ρ(HCl) = 1,18 g/ml.
- 7 Kyselina chlorovodíková, c(HCl) = 0,5 mol/l.
Příprava: V 1000ml odměrné baňce se k asi 500 ml vody (10) přidá 44 ml HCl (6) a po ochlazení se doplní vodou (10) po značku.
- 8 Hydroxid draselný, KOH, čistota 89 %.
- 9 Hydroxid draselný, roztok, c(KOH) = 0,23 mol/l.
Příprava: Navážka 14,5 g KOH (8) se rozpustí v asi 900 ml vody (10) v 1000ml odměrné baňce a po ochlazení se doplní vodou (10) po značku. Vhodná navážka se volí v závislosti na čistotě KOH (8)
- 10 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10068.1 – Stanovení obsahu vlákniny	Vydání	1
		Revize	0

4 Přístroje a pomůcky

- Zahřívací jednotka pro hydrolýzu roztokem kyseliny sírové a hydroxidu draselného, s oporou pro filtrační kelímky, vybavená vypouštěcím potrubím s otvorem na vypouštěné tekutiny a pro připojení vakua, popřípadě stlačeného vzduchu. Zařízení se vždy před použitím přehřívá 5 min vroucí vodou.
- Skleněný filtrační kelímek s porézní vložkou (fritou) o velikosti pórů (40 – 90) μm . Před prvním použitím se kelímek několik minut zahřeje na 500 °C a potom vychladí (poznámka 8).
- Hydrolyzační nádobka o objemu nejméně 270 ml s refluxním chladičem, vhodná pro vaření.
- Laboratorní sušárna s regulací teploty.
- Muflová pec s regulací teploty.
- Extrakční jednotka s oporou pro filtrační kelímky vybavená vypouštěcím potrubím s kohoutem na vakuum a vypouštěné tekutiny.
- Spojovací kroužky pro spojení zahřívací jednotky, filtračních kelímků a hydrolyzační nádoby a pro připojení kelímků ke studené extrakční jednotce.
- Analytické váhy.


5 Postup

Do filtračního kelímku se naváží 1 g upraveného vzorku s přesností na 0,001 g. Filtrační kelímek se připojí k zahřívací jednotce a poté k hydrolyzační nádobce. Do spojené hydrolyzační nádoby a filtračního kelímku se nalije 150 ml vroucího roztoku kyseliny sírové (2) a v případě potřeby se přidá několik kapek odpěňovacího činidla (3). Zahřeje se během (5 ± 2) min k varu a intenzivně se vaří přesně 30 min od počátku varu. Otevře se vypouštěcí ventil a kyselina sírová se odsaje za použití vakua přes filtrační kelímek a zbytek se promyje asi 3×30 ml horké vody (10), vždy po úplném odsátí kapaliny z kelímku.

Vypouštěcí ventil se uzavře, přidá se 150 ml vroucího roztoku hydroxidu draselného (9) do spojené hydrolyzační nádoby a filtračního kelímku a přidá se několik kapek odpěňovacího činidla (3). Kapalina se přivede během (5 ± 2) min k varu a intenzivně se vaří přesně 30 min od počátku varu. Potom se zopakuje filtrace a promývání jako po varu s kyselinou sírovou.

Po skončení promývání a odsávání se odpojí filtrační kelímek se svým obsahem a připojí se ke studené extrakční jednotce. Za použití vakua se promyje zbytek ve filtračním kelímku 3×25 ml acetonu (4), promývá se vždy do úplného odsátí acetonu.

Filtrační kelímek se vysuší do konstantní hmotnosti v sušárně při 130 °C. Po každém vysušení a ochlazení v exsikátoru se vždy rychle zváží (poznámka 1). Filtrační kelímek se vloží do muflové pece a spaluje při ($475 - 500$) °C nejméně 30 min do konstantní hmotnosti. Úbytek hmotnosti mezi dvěma váženími nesmí být větší než 2 mg. Po každém spalování a ochlazení, nejprve v peci při nejvýše 300°C a potom v exsikátoru, se kelímek zváží (poznámka 2).

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10068.1 – Stanovení obsahu vlákniny	Vydání	1
		Revize	0

5.1 Krmiva s obsahem tuku nad 10 %

Krmiva s obsahem tuku nad 10 % musejí být před zkouškou odtučněna petroletherem (5). Filtrační kelímek s obsahem se připojí ke studené extrakční jednotce a zbytek se promyje 3 × 30 ml petroletheru (5) za použití vakua až do úplného odsátí. Potom se kelímek připojí k zahřívací jednotce a pokračuje se podle postupu viz bod 5.

5.2 Krmiva s obsahem tuku, který nelze přímo extrahovat petroletherem

Krmiva s obsahem tuku, který nelze přímo extrahovat petroletherem (5), musejí být odtučněna (bod 5.1) a potom ještě jednou po varu s kyselinou (2). Po varu s kyselinou (2) a následném promytí se filtrační kelímek s obsahem připojí ke studené extrakční jednotce a promyje se 3 × 30 ml acetonu (4) a následně 3 × 30 ml petroletheru (5). Odsaje se do sucha za použití vakua a pokračuje se ve zkoušce podle bodu 5 od přidání hydroxidu draselného (9).

5.3 Krmiva s obsahem uhličitánů nad 5 %

Pokud krmivo obsahuje více než 5 % uhličitánů vyjádřených jako uhličitán vápenatý, připojí se filtrační kelímek s naváženým vzorkem k zahřívací jednotce. Vzorek se promyje 3 × 30 ml kyseliny chlorovodíkové (7). Po každém přidání kyseliny se filtruje po minutové prodlevě. Nakonec se promyje 30 ml vody (10) a pokračuje se podle bodu 5.

Poznámky

- 1 U většiny vzorků krmiv k dosažení konstantní hmotnosti při sušení dostačuje sušení filtračního kelímku se vzorkem 2 h při 130 °C.
- 2 U většiny vzorků krmiv k dosažení konstantní hmotnosti při spalování dostačuje spalování filtračního kelímku se vzorkem 2 h při 500 °C.

6 Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah vlákniny jako procento vzorku se vypočítá podle následujícího vztahu


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

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.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10068.1 – Stanovení obsahu vlákniny	Vydání	1
		Revize	0

Poznámky

- 3 *Pokud se používá přístroj, u kterého je několik filtračních kelímků připojeno k jedné zahřívací jednotce, neprovádí se obě paralelní stanovení u téhož vzorku ve stejné sérii.*
- 4 *Pokud je po varu s kyselinou nebo louhem obtížné roztok přefiltrovat, použije se stlačený vzduch z vypouštěcího ventilu zahřívací jednotky a potom se pokračuje ve filtraci.*
- 5 *Teplota spalování nesmí přesáhnout 500 °C, aby se prodloužila životnost skleněných filtračních kelímků. Během zahřívání a ochlazování nesmějí být kelímky vystaveny nadměrnému teplotnímu šoku.*