

Tabulka hodnot pro 25 ml Luff-Schoorlova činidla

ml roztoku thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 mol/l, dvě minuty zahřívání k varu a deset minut varu

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 mol/l	Glukóza, fruktóza, invertní cukry $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		Laktóza $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		Maltóza $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 mol/l
	ml	mg	rozdíl	mg	rozdíl	mg	
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2		88,0		94,6		23

L. STANOVENÍ OBSAHU ŠKROBU

– POLARIMETRICKÁ METODA –

1. Účel a rozsah

Tato metoda umožňuje stanovení obsahu škrobu a degradačních produktů škrobu s vysokou molekulární hmotností v krmivech za účelem kontroly shody s obsahem metabolizovatelné energie (ustanovení v příloze VII) a se směrnicí Rady 96/25/ES⁽¹⁾.

2. Princip

Metoda zahrnuje dvě stanovení. Nejprve je vzorek podroben působení zředěné kyseliny chlorovodíkové. Po vyčření a filtraci je optická otáčivost roztoku měřena polarimetricky.

Potom je vzorek extrahován 40% ethanolem. Po okyselení filtrátu kyselinou chlorovodíkovou, vyčření a filtraci je optická otáčivost roztoku měřena stejně jako u prvního stanovení.

Rozdíl mezi těmito dvěma měřeními násobený známým faktorem udává obsah škrobu ve vzorku.

3. Chemikálie

3.1 Kyselina chlorovodíková, roztok 25 % (w/w), hustota: 1,126 g/ml.

⁽¹⁾ Úř. věst. L 125, 23.5.1996, s. 35.

- 3.2 Kyselina chlorovodíková, roztok 1,13 % (w/v).
Koncentrace se musí zkontrolovat titrací za použití roztoku 0,1 mol/l hydroxidu sodného a přítomnosti 0,1 % (w/v) methylčerveně v 94% (v/v) ethanolu. Pro neutralizaci 10 ml je zapotřebí 30,94 ml NaOH 0,1 mol/l.
- 3.3 Carrezovo činidlo I: ve vodě se rozpustí 21,9 g octanu zinečnatého $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ a 3 g ledové kyseliny octové. Doplní se vodou na 100 ml.
- 3.4 Carrezovo činidlo II: 10,6 g kyanoželeznanu draselného (ferrokyanidu draselného $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) se rozpustí ve vodě. Doplní se vodou na 100 ml.
- 3.5 Ethanol, roztok 40 % (v/v), hustota: 0,948 g/ml při 20 °C.

4. Přístroje a pomůcky

- 4.1 250 ml Erlenmeyerova baňka se standardním skleněným zábrusem a zpětným chladičem.
- 4.2 Polarimetr nebo sacharimetr.

5. Postup

5.1 Příprava vzorku

Vzorek se upraví mletím tak, aby prošel sítím s kruhovými otvory o velikosti 0,5 mm.

5.2 Stanovení celkové optické otáčivosti (*P* nebo *S*) (viz poznámka 7.1)

Do 100 ml odměrné baňky se naváží 2,5 g umletého vzorku s přesností na 1 mg. Přidá se 25 ml kyseliny chlorovodíkové (3.2), protřepe se, aby se vzorek rovnoměrně rozprostřel, a potom se přidá dalších 25 ml kyseliny chlorovodíkové (3.2). Baňka se ponoří do vroucí vodní lázně a první tři minuty se s ní intenzivně třepe, aby nedošlo k tvorbě shluků. Množství vody ve vodní lázni musí být takové, aby při ponoření baňky do lázně nedošlo k přerušení varu. Během protřepávání nesmí být baňka vyjmuta z lázně. Přesně po 15 minutách se baňka vyjme z lázně, přidá se 30 ml studené vody a ihned se ochladí na 20 °C.

Přidá se 5 ml Carrezova činidla I (3.3) a asi 30 sekund se protřepává. Přidá se 5 ml Carrezova činidla II (3.4) a opět se protřepává asi 30 sekund. Baňka se doplní po značku vodou, promíchá a přefiltruje. Pokud není filtrát zcela čirý (k tomu dochází pouze výjimečně), stanovení se zopakuje s použitím většího množství Carrezových činidel I a II, například 10 ml.

Optická otáčivost roztoku se měří na polarimetru nebo sacharimetru v 200 mm trubici.

5.3 Stanovení optické otáčivosti (*P'* nebo *S'*) látek rozpustných ve 40% ethanolu

Do 100 ml odměrné baňky se naváží 5 g vzorku s přesností na 1 mg a přidá se asi 80 ml ethanolu (3.5) (viz poznámka 7.2). Baňka se nechá stát 1 hodinu při laboratorní teplotě; během této doby se šestkrát důkladně protřepe, aby se zkoušený vzorek zcela promísil s ethanolem. Doplní se ethanolem (3.5) po značku, promíchá a přefiltruje.

Odpipetuje se 50 ml filtrátu (= 2,5 g vzorku) do 250 ml Erlenmeyerovy baňky, přidá se 2,1 ml kyseliny chlorovodíkové (3.1) a důkladně se protřepe. Na Erlenmeyerovu baňku se připojí zpětný chladič a baňka se ponoří do vroucí vodní lázně. Přesně po 15 minutách se baňka vyjme z lázně, její obsah se převede do 100 ml odměrné baňky, varná baňka se vypláchne malým množstvím studené vody a ochladí se na 20 °C.

Potom se vyčerá Carrezovými činidly I a II (3.3 a 3.4), doplní se vodou po značku, promíchá a přefiltruje. Při měření optické otáčivosti se postupuje podle druhého a třetího odstavce bodu 5.2.

6. Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah škrobu (v %) se vypočte podle následujících vzorců:

6.1 Měření na polarimetru

$$\text{Obsah škrobu (v \%)} = \frac{2\,000(P - P')}{[\alpha]_D^{20}}$$

P = celková optická otáčivost v úhlových stupních

- P' = optická otáčivost v úhlových stupních látek rozpustných ve 40% (v/v) ethanolu
- $[\alpha]_D^{20}$ = specifická optická otáčivost čistého škrobu. Konvenční hodnoty D přijaté pro tento faktor jsou následující:
- + 185,9°: rýžový škrob,
 - + 185,7°: bramborový škrob,
 - + 184,6°: kukuřičný škrob,
 - + 182,7°: pšeničný škrob,
 - + 181,5°: ječný škrob,
 - + 181,3°: ovesný škrob,
 - + 184,0°: ostatní typy škrobu a škrobových směsí v krmných směsích.

6.2 Měření na sacharimetru

$$\text{Obsah škrobu (v \%)} = \frac{2\,000}{[\alpha]_D^{20}} \times \frac{(2N \times 0,665) \times (S - S') - 26,6N \times (S - S')}{100} - \frac{26,6N \times (S - S')}{[\alpha]_D^{20}}$$

- S = celková optická otáčivost ve stupních sacharizace
- S' = optická otáčivost ve stupních sacharizace látek rozpustných ve 40% (v/v) ethanolu
- N = navážka sacharózy v g ve 100 ml vody, která poskytne ve 200mm trubici optickou otáčivost rovnou 100° sacharizace
- 16,29 g pro francouzské sacharimetry
 - 26,00 g pro německé sacharimetry
 - 20,00 g pro směsné sacharimetry
- $[\alpha]_D^{20}$ = specifická optická otáčivost čistého škrobu (viz 6.1).

6.3 Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou paralelních stanovení provedených na stejném vzorku nesmí překročit 0,4 % v absolutní hodnotě u obsahu škrobu do 40 % a 1 % relat. u obsahu škrobu 40 % a více.

7. Poznámky

- 7.1 Pokud vzorek obsahuje více než 6 % uhličitánů, vyjádřených jako uhličitán vápenatý, musí být přítomné uhličitany před stanovením celkové optické otáčivosti rozloženy přesně odpovídajícím množstvím zředěné kyseliny sírové.
- 7.2 U výrobků s vysokým obsahem laktózy, jako např. sušené mléčné sérum nebo sušené odstředěné mléko, postupuje se po přidání 80 ml ethanolu (3.5) níže uvedeným způsobem. Na baňku se upevní zpětný chladič a baňka se ponoří do vodní lázně o teplotě 50 °C na 30 minut. Nechá se vychladnout a dále se pokračuje podle bodu 5.3.
- 7.3 Pokud jsou v krmivu ve významném množství přítomny níže uvedené krmné suroviny, dochází k interferencím při stanovení škrobu polarimetrickou metodou, což může způsobit nesprávné výsledky:
- produkty z (cukrové) řepy jako (cukrová) řepná pulpa, (cukrová) řepná melasa, směs (cukrové) řepné drti a melasy, (cukrová) řepná vináza, (řepný) cukr,
 - citrusová pulpa,
 - lněné semeno; lněné expelery; extrahované lněné semeno,
 - řepkové semeno; řepkové expelery; extrahované řepkové semeno; loupané řepkové semeno,
 - slunečnicové semeno; extrahované slunečnicové semeno; slunečnicové semeno, částečně loupané a extrahované,
 - expelery z kopry; extrahovaná kopra,
 - bramborová pulpa,
 - sušené kvasnice,

- produkty bohaté na inulín (např. chipsy a moučka z topinambur),
- škvarky.

M. STANOVENÍ OBSAHU POPELA

1. Účel a rozsah

Tato metoda umožňuje stanovení obsahu popela v krmivech.

2. Princip

Vzorek se zpopelní při 550 °C; zbytek se zváží.

3. Chemikálie

Dusičnan amonný, roztok 20 % (w/v).

4. Přístroje a pomůcky

4.1 Topná deska.

4.2 Elektrická muflová pec s termostatem.

4.3 Spalovací kelímky z křemíku, porcelánu nebo platiny, buď pravoúhlé (asi 60 × 40 × 25 mm) nebo kulaté (průměr 60–70 mm, výška 20–40 mm).

5. Postup

Do spalovacího kelímku, který byl předem zahřát na teplotu 550 °C, ochlazen a zvážen, se s přesností na 1 mg naváží 5 g vzorku (2,5 g v případě látek, které mají během spalování tendenci zvětšovat svůj objem). Potom se kelímeček vloží na topnou desku a postupně se zahřívá, až látka zuhelnatí. Spaluje se podle bodu 5.1 nebo 5.2.

5.1 Spalovací kelímeček se vloží do muflové pece zahřáté na 550 °C. Při této teplotě se spaluje, dokud nevznikne bílý, lehce šedý nebo načervenalý popel, který se zdá být prostý zuhelnatělých částic. Kelímeček se vloží do exsikátoru, nechá se vychladnout a ihned se zváží.

5.2 Spalovací kelímeček se vloží do muflové pece zahřáté na 550 °C. Spaluje se 3 hodiny. Kelímeček se vloží do exsikátoru, nechá se vychladnout a ihned se zváží. Spaluje se dalších 30 minut, aby se zajistilo, že je dosažená hmotnost popela konstantní (úbytek hmotnosti mezi dvěma váženími nesmí být větší než 1 mg).

6. Výpočet a vyjádření výsledků

Vypočítá se hmotnost zbytku po odečtení hmotnosti kelímku (táry).

Výsledek se vyjádří jako procento vzorku.

7. Poznámky

7.1 Popel látek, které se obtížně zpopelňují, se musí spalovat nejméně po dobu tří hodin. Po vychladnutí se přidá několik kapek 20% roztoku dusičnanu amonného nebo vody (opatrně, aby nedošlo k rozptýlu popela anebo ke tvoření hrudek). Po vysušení v sušárně se pokračuje v žíhání. Postup se opakuje podle potřeby tak dlouho, až je zpopelnění úplné.

7.2 V případě látek, které jsou rezistentní na proces popsaný v bodě 7.1, se postupuje takto: po spalování po dobu tří hodin se popel rozmíchá v horké vodě a přefiltruje se přes malý bezpopelný filtr. Filtr s popelem se dále spaluje v původním kelímku. Filtrát se převede do vychlazeného kelímku, odpaří do sucha, opět se spálí a popel se zváží.