

М. Ф. Кулик, член-кореспондент НААН

Ю. В. Обертюх, В. П. Жуков, кандидати сільськогосподарських наук

І. О. Виговська, Л. О. Гончар, Л. І. Руденко

Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН

МЕТОДИКА ВИЗНАЧЕННЯ СИРОЇ КЛІТКОВИНИ В КОРМАХ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ АВТОКЛАВУВАННЯ

Розроблено метод визначення вмісту сирої клітковини в кормах із застосуванням автоклавування, що покращує точність вимірювань. Позитивним фактором є відсутність контакту робочого персоналу лабораторії із шкідливими випарами різних кислотних сполук і амінів. Концентрації розчинів кислот та лугів максимально наближені до оригінального методу Геннеберга і Штомана.

Ключові слова: *сира клітковина, метод визначення сирої клітковини.*

Вимірювання сирої клітковини в рослинних кормах почалося з гравіметричного методу розробленого на сільськогосподарській дослідній станції Веенде в Німеччині у другій половині дев'ятнадцятого століття Геннебергом і Штоманом (1860) [3]. Метод складається з обробки рослинного матеріалу кислотою та лугом, у результаті чого одержується залишок сирої клітковини. Метод став широко розповсюджений у першій половині двадцятого століття, і з деякою модифікацією оригінального методу був пізніше прийнятий Асоціацією офіційних хіміків-аналітиків International (АОАС, 1995) в якості методу для визначення клітковини в кормах для тварин.

Сира клітковина — це залишок після теплової обробки рослинних тканин слабкими розчинами сірчаної кислоти і гідроксиду калію (натрію). Слабкий розчин сірчаної кислоти (1,25 %) гідролізує крохмаль і геміцелюлозу, також у розчин переходить частина азотовмісних сполук (аміни, аміди, алкалоїди) і мінеральних речовин. Слабкий розчин лугу (1,25 %) розчиняє білкові речовини, лігнін та омилює жири. Однак при обробці рослинних кормів слабкими мінеральними кислотами та лугами частина речовин, зв'язаних із клітковиною, остається невидаленою. Це частина лігніна, незначна кількість геміцелюлози, пробкова та ретикулярна тканини, деякі білкові та зольні сполуки [1].

У сучасних модифікаціях даного методу використовується 4 % сірчана кислота та 6 % гідроокис натрію, яким нейтралізують кислоту та створюють лужне середовище для вимивання лугорозчинних сполук [2]. Перевищення

концентрації сірчаної кислоти може призвести до невідповідності одержаних результатів, порівняно з оригінальним методом за Геннебергом і Штоманом.

Метою розробки даного методу було максимально наблизити концентрації реагентів до оригіналу та максимально спростити процес визначення.

Суть методу полягає в тому, що зразок рослинного корму подрібнюють і, за необхідності, знежирюють, обробляють слабким розчином сірчаної кислоти та піддають температурній обробці в автоклаві. Після автоклавування до проби додають розчин лугу і знову піддають температурній обробці в автоклаві. Потім пробу промивають водою, висушують і визначають масову частку сирової клітковини. За таких умов відсутній контакт робочого персоналу лабораторії із шкідливими випарами різних кислотних сполук і амінів.

Матеріал та методика. Для проведення аналізу застосовують такі пристрої та реактиви:

1. Подрібнювач проб рослин ИПР-2, млинок МРП-2, МГК-3, МУК-2 чи лабораторний млинок інших подібних моделей.

2. Сито з отворами діаметром 1 мм.

3. Ваги лабораторні не нижче 2-го класу точності.

4. Стерилізатор паровий (автоклав) ВК-75-01 об'ємом 75 дм³ із манометром або інших подібних моделей.

5. Шафа сушильна типу СЭШ-3М або СЭШ-3МУ з терморегулятором або інших подібних моделей.

6. Сірчана кислота, ч. д. а.

7. Натрію гідроокис, ч. д. а.

8. Ефір петролейний, ч. або інший розчинник жирів.

9. Вода дистильована.

10. Папір фільтрувальний лабораторний марки ФНБ.

11. Тканина фільтрувальна (штучний шовк) стійка до дії розчинників жирів.

12. Промивалка лабораторна поліетиленова.

13. Водоструминний насос з'єднаний силіконовою трубкою зі скляною лійкою з сітчастою дедероновою тканиною або фільтрувальною тканиною.

14. Лійки лабораторні В-75-170 ХС.

15. Колби конічні зі шліфом місткістю 250 см³ з пластиковою пробкою 29/32 мм.

16. Циліндр мірний місткістю 250 см³.

17. Колби мірні місткістю 1000 см³ із скляною притертою пробкою.

18. Стакани високі місткістю 600 см³ і 1000 см³.

Відбирання середньої проби. Для цього точково відбирають проби рослинних кормів чи комбікормів та, перемішуючи їх, готують об'єднану пробу, яку розстелюють тонким шаром на плівці та ділять по діагоналі на чотири трикутники (метод квартування), з яких два протилежних видаляють, із двох, що залишилися, готують середню пробу. Середню пробу ділять

навіл для отримання лабораторної і контрольної проб. Для неоднорідної за структурою рослинної проби необхідно відокремити її складові частини, наприклад листя, стебла, суцвіття і т. д. і в кожній визначити вміст сирової клітковини. Для отримання остаточного результату вміст сирової клітковини в складовій частині множать на частку складової частини в пробі та визначають суму добутоків.

Відібрані проби вегетативної маси рослин подрібнюють завдовжки до 1 см, висушують до повітряно-сухого стану за температури 60 °С та зберігають у скляних ємкостях із притертою пробкою (кришкою) або пластикових у сухому, темному, прохолодному місці до проведення аналізів.

Готування проби до аналізу. Пробу в кількості 10 г подрібнюють на лабораторному млинку і просіюють крізь сито з отворами діаметром 1 мм. Залишок на ситі повторно подрібнюють. Процес подрібнення повторюють до просіювання не менше ніж 70 % проби. Якщо вміст жиру в пробі перевищує 5 %, то необхідно провести його екстракцію петролейним ефіром, гексаном або іншим розчинником жирів.

Приготування розчинів. Приготування розчину сірчаної кислоти масової концентрації 1,25 %. У мірну колбу ємністю 1000 см³ в яку попередньо налито 250 мл дистильованої води додають 7 мл концентрованої сірчаної кислоти, після охолодження розчину його об'єм доводять до 1000 мл дистильованою водою.

Приготування 1 М розчину гідроксиду натрію. У мірній колбі ємністю 1000 см³ розчиняють у дистильованій воді 40 г гідроксиду натрію. Розчин лугу зберігають у пластиковому посуді.

Результати досліджень.

Проведення аналізу. Кислотний гідроліз. Наважки проб (п. 6) масою 1—2 г зважують із точністю до 0,0001 г на аналітичних вагах, поміщають у конічні колби з шліфом об'ємом 250 см³, додають 100 мл 1,25 % розчину сірчаної кислоти і закривають пластиковими пробками. Колби з пробами поміщають в автоклав, нагрівають до температури 112 °С і надлишковому тиску 0,05 МПа (0,5 кг/см²), витримують упродовж однієї години і вимикають нагрів. Колби виймають з автоклава тільки після його охолодження і нормалізації тиску.

Лужний гідроліз. До проби гідролізованої кислотою додають 100 мл 1 М розчину гідроксиду натрію, закривають пластиковими пробками і поміщають в автоклав для нагрівання упродовж однієї години. Після завершення автоклавування вміст конічних колб переносять у високі стакани місткістю 600 см³. Для видалення залишків проби зі стінок колбочок користуються промивалкою. Далі додають у стакани з пробкою гарячу (температура 95 °С) дистильовану воду до верхньої мітки і залишають розчин відстоюватися протягом однієї години. Водоструминним насосом, за допомогою скляної лійки з сітчастою дедероною тканиною або фільтрувальною тканиною, відсмоктують верхній шар водного розчину до висоти в 1 см над осадам. Знову в стакани з пробкою наливають гарячу

дистильовану воду, відстоюють і відсмоктують верхній шар водного розчину. Процедуру промивання проб гарячою водою повторюють тричі, а останній четвертий раз промивають холодною дистильованою водою. Відмиті проби клітковини переносять зі стакана на попередньо зважені паперові фільтри, які поміщають на лійках, що знаходяться на конічних колбах, при цьому користуються промивалкою із дистильованою водою. Залишок на фільтрі являє собою сиру клітковину. Фільтри із залишком проби сирові клітковини висушують до повітряно-сухого стану (60 °С) і зважують.

Обчислення результатів. Масову частку сирові клітковини (СК) у відсотках обчислюють за формулою:

$$СК(\%) = \frac{m_{зф} - m_{ф}}{m_n} \cdot 100, \quad (1)$$

де m_n — маса наважки проби;

$m_{зф}$ — маса висушеного залишку разом із фільтром;

$m_{ф}$ — маса фільтра.

Відносна різниця між двома паралельними аналізами не повинна перевищувати 5 %.

Висновки. Визначення сирові клітковини в будь-яких кормах із застосуванням автоклавування дає змогу проводити більш точний аналіз великої кількості проб. Позитивним фактором є відсутність контакту робочого персоналу лабораторії із шкідливими випарами різних кислотних сполук і амінів. Концентрації розчинів кислот та лугів максимально наближені до оригінального методу Геннеберга і Штомана.

Бібліографічний список

1. Лукашик Н. А. Зоотехнический анализ кормов: руководство к практическим занятиям / Лукашик Н. А., Тащилин В. А. – Москва: Колос, 1965. – 224 с.
2. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. – Львів: ВКП «ВМС», 2004. – 399 с.
3. Henneberg W., Stohmann F. Beitrage zur Begrundung einer Rationellen Fütterung der Wiederkauer // 1860, Vol. I, II, Schwetschke u. Sohn, Brunswick.

Надійшла до редколегії 07. 07. 2016 року
Рецензент О. М. Курнаєв, кандидат сільськогосподарських наук