



FOSS

Электронная книга

Анализ клетчатки в кормах для животных

Сырая клетчатка, нейтрально-детергентная клетчатка и кислотно-детергентная клетчатка – стандарты и варианты автоматизации

Апрель 2018

ANALYTICS BEYOND MEASURE

ПРЕДИСЛОВИЕ

Несомненно, что клетчатка имеет решающее значение для сбалансированного корма, но мало кто детально разбирается в предмете.

Существует тенденция перехода от сырой клетчатки к детергентной с соответствующими стандартами, особенно для целей маркировки или в случае торговых споров. При этом возникает вопрос о выборе метода с точки зрения удовлетворения этих стандартов и сохранения эффективности и производительности лаборатории. Наконец, важную роль играет анализ в ближнем ИК-диапазоне для типовой проверки клетчатки с надежной эффективной калибровкой по сравнению с эталонными методами.

Хотя окончательное решение для клетчатки всегда будет труднодостижимым, эта электронная книга объединяет соответствующие точки зрения на предмет на основе статей, документов и интервью, проведенных за последние годы разработки продукта в FOSS. Благодаря прогрессу в области стандартов, автоматизации химических методов и эффективной калибровки NIR становится ясно, что глобальный согласованный подход к анализу клетчатки в кормах – это реальность для современной комбикормовой лаборатории.

СОДЕРЖАНИЕ

Обзор анализа клетчатки: От сырой к детергентной клетчатке и созданию глобальных эталонных методов измерения клетчатки . . .	5
Технология сырой и детергентной клетчатки	11
Обзор глобальных стандартов	17
Важность автоматизации: Скорость, безопасность и снижение вероятности ошибки	21
Варианты автоматизации: Тигель или фильтр	23
Видео примера использования: Автоматизированный анализ клетчатки для калибровки NIR	29
Обзор решений	32

Обзор анализа клетчатки:

**От сырой к детергентной клетчатке
и созданию глобальных эталонных
методов измерения клетчатки**

Требования к содержанию клетчатки в кормах растут. Для моногастральных животных правильное соотношение фракций клетчатки улучшает использование комбикорма, тогда как для жвачных животных клетчатка является важной частью метаболизма в рубце. Клетчатка является определяющим фактором для гидролиза всех пищевых ингредиентов в корме.

Растительная клетчатка поступает из материала, составляющего клеточные оболочки. Там присутствуют такие компоненты клетчатки, как целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин. Остальное представляет собой нерасщепленный белок, пектин, воду и золу.

Определяется тем, как проводится анализ

Как вы, наверное, догадались, клетчатка никоим образом не определяется одной группой компонентов – в основном клетчатка определяется согласно исторически сложившимся процедурам анализа.

Ситуация резюмируется в этом заявлении AAFCO – Ассоциации американских чиновников по контролю за кормами: "Поскольку нет гарантии прямого соответствия между химической растворимостью и питательностью, на самом деле **клетчатка определяется методом, используемым для ее выделения.**

Фактическое определение клетчатки становится зависимым от метода, что объясняет, почему существует так много различных подходов к анализу клетчатки". Цитата из документа ***Критические факторы в определении клетчатки в кормах и фураже***, Комитет AAFCO по лабораторным методам и услугам, Рабочая группа по наилучшим методам использования клетчатки, февраль 2017 г. (Версия 1).

Обзор детергентной клетчатки

Хотя метод был разработан в начале 19 века, многие оценки питательной ценности овощей и кормов по-прежнему рассчитываются на основе значений сырой клетчатки с помощью т.н. метода Веенде. Однако метод сырой клетчатки имеет несколько проблем при оценке количества клетчатки или стенок растительных клеток.

Но в последние годы специалисты по питанию скота начали использовать нейтрально-детергентную клетчатку (NDF), кислотнo-детергентную клетчатку (ADF) и кислотнo-детергентный лигнин (ADL) в качестве показателей энергии рациона и потребления, особенно для рационов жвачных животных. В результате эти фракции клетчатки



Для жвачных животных клетчатка является важной частью метаболизма в рубце.

заменяли сырую клетчатку (CF) в составе рациона во многих частях мира. Сегодня значения ADF и NDF часто используются для оценки количества фуража, которое может перевариваться животными; общего количества усваиваемых питательных веществ и других энергетических характеристик, а также относительной ценности корма (индекс, используемый для предоставления правильного корма для конкретных показателей продуктивности и состояния животных), для оценки стоимости сена и управления доступа к фуражу, а также развития навыков сбора и хранения урожая.

Детергентная система анализа кормов была разработана Питером Ван Соестом в Министерстве сельского хозяйства США в 1960-х годах и сегодня является одним из самых важных наборов анализов кормов в питании жвачных животных, но также все

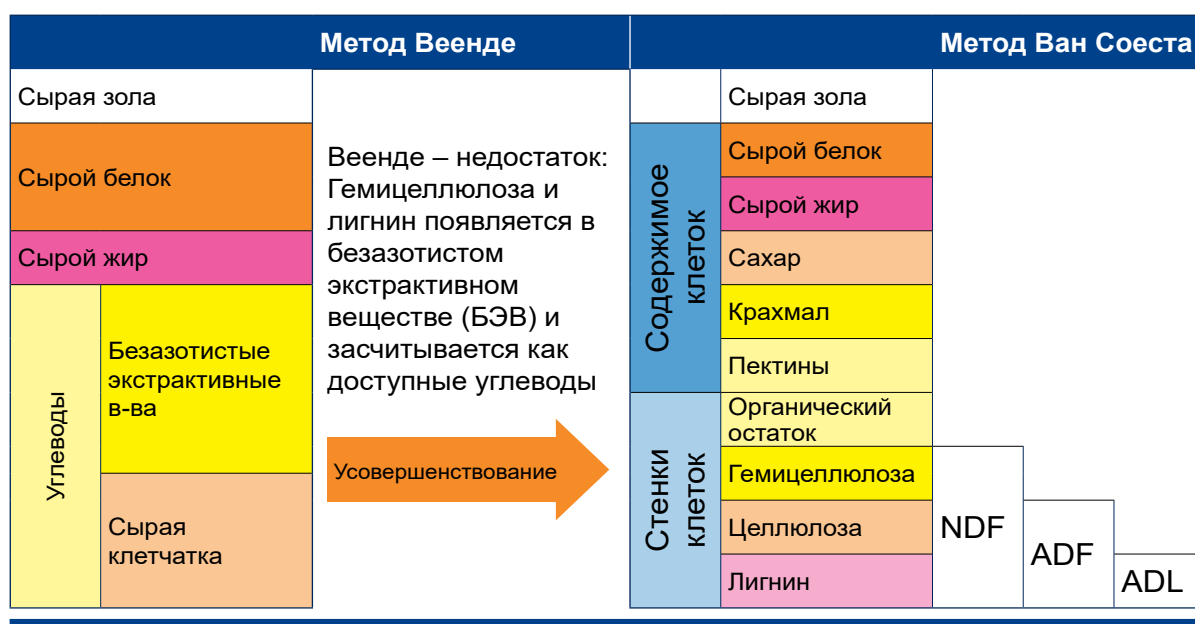


Рисунок 1: Переход от сырой к детергентной клетчатке

чаще встречается в исследованиях, не связанных с жвачными.

Концепция анализа детергентной клетчатки заключается в том, что растительные клетки можно разделить на менее перевариваемые клеточные стенки (содержащие гемицеллюлозу, целлюлозу и лигнин) и в основном перевариваемые клетки (содержащие крахмал и сахара). Эти два компонента можно разделить с использованием двух детергентов: нейтрального детергента и кислотного детергента. Нейтрально-детергентная клетчатка – хороший показатель объема и, следовательно, поступления корма. Кислотно-детергентная клетчатка является хорошим показателем усвояемости и, следовательно, поступления энергии.

Таким образом, с помощью метода Ван Соста были сделаны улучшения для уменьшения ошибок при плохом восстановлении гемицеллюлозы и лигнина. Метод позволяет проводить последовательное фракционирование фракций клетчатки на NDF, ADF и кислотно-детергентный лигнин (ADL), см. рисунок 1, и, таким образом, является лучшим методом для расчета, например, энергетической ценности корма для животных.

Некоторые определения

Сырая клетчатка (CF) – химический метод, используемый для описания неусваиваемой части растительного материала. Однако некоторые из этих веществ могут частично перевариваться микроорганизмами в рубце крупного рогатого скота. Чем выше содержание клетчатки, тем ниже энергетическая ценность корма. Это не очень полезное значение. Практика анализа сырой клетчатки в кормах для жвачных животных снижается, но она по-прежнему широко используется для моногастрий (например, свиней).

Нейтрально-детергентная клетчатка (NDF) – Значение NDF представляет собой общую массу клеточных стенок, которая состоит из фракции ADF плюс гемицеллюлозы. Значения NDF важны, поскольку они отражают количество фуража, которое может потреблять животное. По мере увеличения доли NDF потребление сухого вещества обычно уменьшается.

Кислотно-детергентная клетчатка (ADF) – Значение ADF относится к частям клеточных стенок фуража, которые состоят из целлюлозы и лигнина. Эти значения важны, поскольку они связаны со способностью животного переваривать фураж. По мере увеличения ADF способность к перевариванию или усвояемость фуража уменьшается.

Кислотно-детергентный лигнин (ADL) – Доля лигнина в ADF.

ГЛАВА 2

Технология сырой и детергентной клетчатки

Технология сырой клетчатки

В так называемом методе Веенде (рис. 1) определяются сырой белок, сырой жир и сырая зола, а влагу и содержание углеводов можно затем рассчитать по разности: Углеводы = количество полного образца – влага – сырой белок – сырой жир.

- История:
Разработана в 1806 г. в Меглине (Германия) химиком Генрихом Айнхофом (1777-1808)
- Использование:
Оценка качества продуктов растительного происхождения в торговле кормами
- Содержание:
Трудноперевариваемые вещества – целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин
- Экстракция:
Горячая H_2SO_4 (1,25% масса/объем) – удаляет свободный сахар, крахмал
Горячий $NaOH/KOH$ (1,25% масса/объем) – удаляет белок, сахараиды

Недостаток:

Большая часть гемицеллюлозы (до 80%) и лигнина (50-90%) удаляется при последовательных кислотных и щелочных экстракциях.

В результате сырая клетчатка будет недооценена

Кроме того, определение сырой клетчатки путем кислотного гидролиза в 1,25% H_2SO_4 используется для экстракции сахаров и крахмала с последующим щелочным гидролизом в 1,25% NaOH, который удаляет белки и некоторые гемицеллюлозы и лигнин (рис. 1). Сырая клетчатка обычно используется для оценки качества пищевых продуктов растительного происхождения исходя из того, что она представляет их наименее удобоваримую фракцию. Безазотистые экстрактивные вещества (NFE) рассчитываются как разность: (общее) содержание углеводов минус сырая клетчатка.

В среднем 80% гемицеллюлозы или пентозанов и от 50 до 90% лигнина удаляются при последовательной кислотной и щелочной экстракции, в то время как восстановление целлюлозы составляет 50-80%.



Варианты автоматизации могут ускорить анализ клетчатки, делая его более безопасным и согласованным

Таким образом, большая часть гемицеллюлозы и лигнина появляется в безазотистом экстрактивном веществе (БЭВ) и засчитывается как доступные углеводы. БЭВ соломы и травы может содержать даже до 90% этих веществ. Из-за невозможности восстановления труднопереваримых веществ методом сырой клетчатки в значительном числе случаев БЭВ является менее усвояемым, чем сырая клетчатка. Для овощей и злаков ошибка меньше из-за относительно низкого содержания гемицеллюлозы и лигнина. Однако она может быть существенной.

Технология детергентной клетчатки

Предпринимались различные попытки заменить метод сырой клетчатки системой анализа, лучше характеризующей менее питательную фракцию пищи. Наиболее успешной была концепция детергентной клетчатки, разработанная Ван Соестом и коллегами.

История: Разработан в 1963 году в Корнельском университете доктором Питером Дж. Ван Соестом

Параметр: Нейтрально-детергентная клетчатка (NDF)

- Целлюлоза
- Гемицеллюлоза
- Лигнин

Экстракция NDF:

- Термостойкая α -амилаза – гидролизует крахмал
- Лаурилсульфат натрия (SDS) – образует растворимые комплексы с белками
- Триэтиленгликоль – удаляет нерастворимый материал, не связанный с клетчаткой
- ЭДТА – предотвращает образование нерастворимых кальций-пектиновых матриц и таким образом растворяет пектин
- Борат и фосфатный буфер – поддерживают pH 7 и предотвращают гидролиз гемицеллюлозы

На первом этапе образец обрабатывается раствором нейтрального детергента (NDS) и промывается теплостойкой амилазой, чтобы сделать растворимыми сахара, крахмалы и пектины. Полученный остаток состоит из неусвояемых или мало усваиваемых веществ клеточных стенок – гемицеллюлозы, целлюлозы и лигнина. На втором этапе гемицеллюлоза делается растворимой с использованием кислотного детергентного растворителя (ADS). Затем осадок, состоящий из целлюлозы и лигнина, обрабатывается концентрированной серной кислотой, растворяющей целлюлозу и оставляющей в осадке лигнин. Эти этапы могут выполняться последовательно или по отдельности для определения нейтрально-детергентной клетчатки (NDF), кислотного детергентного клетчатки (ADF) и кислотного детергентного лигнина (ADL).



Для моногастральных животных правильное соотношение фракций клетчатки улучшает использование комбикорма.

Обзор глобальных стандартов

В области стандартов были сделаны изменения, чтобы идти в ногу с тенденциями в анализе клетчатки, но, что неизбежно, несколько ретроспективно.

Следует отметить самую последнюю разработку – новый международный стандарт для кислотно-детергентной клетчатки, выпущенный в 2008 году, дополняющий существующий стандарт для нейтрально-детергентной клетчатки. Новый стандарт называется "EN ISO 13906:2008 Корма для животных – Определение содержания кислотно-детергентной клетчатки (ADF) и кислотно-детергентного лигнина (ADL)".

Значимость этого заключается в том, что, хотя методы анализа продолжают обсуждаться, теперь у нас есть общепринятый стандарт ADF и ADL наряду с хорошо зарекомендовавшей себя сырой клетчаткой (CF), что позволяет игрокам кормовой промышленности добиваться результатов, которые действительно во всем мире. Это особенно актуально для маркировки и торговли кормовым сырьем и комбикормом.

Для маркировки кормов жвачных животных:

Гарантируются ADF и NDF

Для маркировки кормов нежвачных животных:

Гарантируется CF

Для маркировки кормов жвачных и нежвачных животных:

Гарантируются ADF, NDF и CF

Дополнительную информацию о стандарте ADF и результатах исследования по этому вопросу можно найти в тематической статье: Animal feeding stuff: "Global Standard for the Determination of Acid Detergent Fibre (ADF) and Lignin" (Мировой стандарт для определения кислотно-детергентной клетчатки (ADF) и лигнина), д-р Jürgen Møller, 2008

Обзор глобальных стандартов:

Разработка стандарта 2008 г. теперь дает нам набор глобальных стандартов для CF, NDF, ADF, ADL

EN ISO 6865 (AOAC 978.10) в части, относящейся к анализу сырой клетчатки (CF) в кормах, описывает аналитическую процедуру с использованием тиглей или метод Fibertec™.

EN ISO 16472 (AOAC 2002.04) в части, относящейся к анализу нейтрально-детергентной клетчатки (NDF) в кормах, описывает аналитическую процедуру с использованием тиглей или метод Fibertec™.

EN ISO 13906 (AOAC 973.18) в части, относящейся к анализу кислотно-детергентной клетчатки (ADF) и лигнина (ADL) в кормах, описывает аналитическую процедуру с использованием тиглей или метод Fibertec™.

Соответствующий глобальный стандарт для измерения клетчатки с помощью NIR

Для анализа в ближнем ИК-диапазоне при типовом измерении клетчатки с надежной калибровкой по сравнению с эталонными методами также содержатся рекомендации в "ISO 12099: Корма для животных, зерновые и молотые зерновые продукты – Рекомендации по применению спектрометрии ближнего ИК-диапазона".

В нем даются определения и рекомендации, в том числе о том, как следует проверять калибровки при сравнении с эталонными измерениями (раздел 11). В документе не указано, какой именно метод использовать, но инструкции предоставляют общую международную рекомендацию.



Стандарты особенно важны для маркировки кормового сырья и комбикормов для торговли.

ГЛАВА 4

Важность автоматизации: скорость, безопасность и снижение вероятности ошибки

В дополнение к методам и стандартам другим важным аспектом анализа клетчатки является возможность автоматизировать связанные шаги. Для иллюстрации в следующем примере, основанном на классическом методе для сырой клетчатки, показана типичная экономия времени на каждый шаг.

Предыдущее ведущее на рынке решение*	СКОЛЬКО ВРЕМЕНИ ЭТО ЗАЙМЕТ?	Fibertec™ 8000
0,5 мин	Вставьте тигли	0,5 мин
–	Выберите и запустите программу	1 мин
6 мин	Добавьте кислоту, пеногаситель и перемешайте образец	–
9 мин	Нагрейте до кипения, поддерживайте спокойное кипение	–
10 мин	Слейте и промойте	–
6 мин	Добавьте щелочь, пеногаситель и перемешайте образец	–
9 мин	Нагрейте до кипения, поддерживайте спокойное кипение	–
10 мин	Слейте и промойте	–
0,5 мин	Выньте тигель	0,5 мин
51 мин	ПОЛНОЕ ВРЕМЯ РАБОТЫ ОПЕРАТОРА	2 мин

* FOSS Fibertec™ 2010

Полностью автоматизированное устройство по сравнению с ручным (рециркуляция в мензурках) также уменьшает потенциальные ошибки персонала и повышает безопасность за счет того, что образцы остаются в приборе при всех процедурах, сводит к минимуму работу с реагентами и обеспечивает быструю и эффективную фильтрацию.

Варианты автоматизации – тигель или фильтр

Итак, мы вкратце рассмотрели историю анализа клетчатки, шаги, связанные с определением сырой и детергентной клетчатки и глобальных стандартов, – все это, как мы надеемся, совершенно понятно. Однако стоит начать рассматривать различные методы автоматизации процедуры, как предмет усложняется различными подходами.

Клетчатку сначала определяли путем кипячения измеряемого материала в мензурке и фильтрации через фильтровальный тигель. Многие лаборатории все еще используют этот метод. В 1976 году компания Tecator представила экстракционную систему Fibertec[®], которая позволяет одновременно дигерировать и последовательно фильтровать шесть измеряемых образцов, тем самым устраняя необходимость переноса раствора в фильтрующий тигель.

Альтернативой является так называемая система фильтрующих мешков. ANKOM представила свою систему в 1992 г. Она позволяет определять до 24 анализируемых образцов, помещенных в фильтровальные мешки в герметичной емкости. Герхардт использовал этот подход в своей системе Fibretherm, которая позволяет одновременно определять 12 анализируемых образцов, помещенных в фильтровальные мешки в рециркуляционном сосуде.

В подходе с фильтровальным мешком образцы корма помещают внутри фильтровальных мешков из полиэфира и обрабатывают их раствором кислого детергента (цетилтриметиламмония бромида). Считается, что остаток обработанного образца представляет собой ADF. Подход с фильтровальным мешком может значительно повысить

производительность лаборатории. В частности, некоторое оборудование позволяет обрабатывать до 24 образцов одновременно.

Благодаря автоматизированным решениям с тиглями, предлагающим обработку только шести образцов, они обрабатываются, по крайней мере на бумаге, намного медленнее. Однако картина изменяется с учетом возможностей автоматизации. Время измерения для отдельного образца сопоставимо, и, когда используется полностью автоматизированное решение, это приводит к значительной экономии времени оператора в



В автоматическом тигельном методе оператор может просто загрузить набор из шести образцов, нажать кнопку "Старт" и уйти.

лаборатории по сравнению с полуавтоматическим фильтровым методом.

Оператор может буквально загрузить набор из шести образцов, нажать кнопку "Старт" и уйти. Фактическое время работы оператора составляет всего две минуты, и оборудование может работать даже ночью. См. дополнительную информацию в разделе "Сравнение экономии времени" в главе 5 и в видео о примере использования в главе 6.

Различия в результатах для некоторых типов образцов

Различные методы определения клетчатки оценивались путем анализа результатов программы квалификационного тестирования Американской ассоциации государственного контроля за качеством кормов для животных (www.aafco.org). Были обнаружены значительные различия в представленных значениях ADF и NDF для образца заменителя цельного молока для телят между методами Fibertec и пакетным методом Ankom. Также представленные значения NDF для образца кукурузного белкового концентрата показывают существенные различия.

Методы и стандарты

Возможно, самое большое значение имеет аспект стандартов.

В то время как фильтровальные мешки со стандартным размером пор получили всемирное признание, официально признан тигельный метод (см. главу 3), который создает предпосылки для имеющих силу результатов для клетчатки во всем мире. Это особенно актуально для маркировки и торговли кормовым сырьем и комбикормом.

Поэтому критерием для оценки методов определения клетчатки является не только восстановление трудноперевариваемых растительных остатков, но и аналитические характеристики методов и их официальный статус. Хотя альтернативные методы позволяют обрабатывать большее количество образцов, соблюдение официальных методов является обязательным в случаях споров и для целей маркировки. Кроме того, возможности автоматизации официальных методов еще более повышают их надежность и обеспечивают высокую эффективность потребления ресурсов.

Автоматизированный анализ клетчатки как эталонный метод для массового анализа с помощью NIR



Новая полностью автоматизированная система анализа волокон показывает, как максимальная автоматизация и минимальное вмешательство человека помогают сделать эталонный анализ клетчатки более согласованным. В свою очередь стабильные эталонные данные могут помочь улучшить калибровку NIR-приборов.

Мы, люди, хороши во многих делах, но когда дело доходит до повторного эталонного анализа клетчатки в лаборатории, автоматическая система имеет более высокую согласованность. Для каждого анализа все делается в правильном порядке, в нужное время и с правильными настройками температуры и идентичной дозировкой растворителей и химических веществ.

Эта согласованность особенно важна, если анализ является краеугольным камнем для контроля качества с помощью NIR, как это имеет место в загруженной лаборатории ADM в компании Europort в Нидерландах.

В целях улучшения согласованности эталонного анализа лаборатория использует полностью автоматизированную систему Fibertec 8000 для анализа клетчатки в соевой муке. Идея заключается в том, чтобы в конечном итоге заменить старую ручную систему, которая является одновременно трудоемкой и нестабильной. "С помощью этой новой системы мы планируем сократить лабораторные ошибки, чтобы данные были более согласованными, и мы сможем использовать эти данные как эталонные для наших калибровок NIR", – говорит администратор лаборатории Джеффри Смит. "Цель нашего производства заключается в том, чтобы производить как можно ближе к пределам наших спецификаций, поэтому нам нужно иметь очень низкое стандартное отклонение, чтобы продукция смогла приблизиться к этой спецификации".

Смотрите видео здесь:



ГЛАВА 7

Варианты анализа клетчатки от FOSS



Серия Fibertec 8000

Сырая клетчатка (CF), нейтрально-детергентная клетчатка (NDF), кислотно-детергентная клетчатка (ADF) и кислотно-детергентный лигнин (ADL).

Fibertec™ 8000 обеспечивает результаты официальных методов (ISO, AOAC), являясь самым безопасным аналитическим решением для определения сырой клетчатки, ADF, ADL и NDF в кормах, кормовых ингредиентах, фураже, кормах для домашних животных, зерне, зерновых и масличных семенах.

Автоматическое измерение до шести образцов одновременно освобождает сотрудников для выполнения других задач – прибор может работать даже всю ночь. Общее время анализа – 2 часа, время работы оператора – 2 минуты.



NIR[™] DS2500 F

Анализатор, работающий в ближней инфракрасной области спектра (NIR), обеспечивающий быстрое косвенное измерение сырой клетчатки в размолотых и неразмолотых образцах кормов и кормовых ингредиентов. Возможна разработка усовершенствованных моделей для таких параметров, как NDF и ADF. Время анализа: 30 секунд.