

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9589:2013

ISO 13906:2008

Xuất bản lần 1

**THỨC ĂN CHĂN NUÔI –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG XƠ XỬ LÝ BẰNG CHẤT TẨY AXIT
(ADF) VÀ LIGNIN XỬ LÝ BẰNG CHẤT TẨY AXIT (ADL)**

*Animal feeding stuffs – Determination of acid detergent fibre (ADF)
and acid detergent lignin (ADL) contents*

HÀ NỘI – 2013

Lời nói đầu

TCVN 9589:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 13906:2008;

TCVN 9589:2013 do Cục Chăn nuôi biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thức ăn chăn nuôi – Xác định hàm lượng xơ xử lý bằng chất tẩy axit (ADF) và lignin xử lý bằng chất tẩy axit (ADL)

Animal feeding stuffs – Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents

CẢNH BÁO – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không đưa ra được tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định xơ xử lý bằng chất tẩy axit (ADF) và lignin xử lý bằng chất tẩy axit (ADL) trong tất cả các loại thức ăn chăn nuôi. Giới hạn của phép xác định là 1 % khối lượng đối với ADF và 1,5 % khối lượng đối với ADL.

Tiêu chuẩn này sử dụng phương pháp khối lượng thông dụng và phương pháp chuẩn.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 6952 (ISO 6498), *Thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

3.1

Hàm lượng xơ xử lý bằng chất tẩy axit (acid detergent fibre content)

Hàm lượng ADF (ADF content)

Phần khối lượng còn lại của xơ thu được sau khi xử lý bằng chất tẩy cation trong axit sulfuric 0,5 mol/l, chủ yếu gồm có xenluloza, lignin và hỗn hợp protein không hòa tan.

CHÚ THÍCH: Phần khối lượng ADF được biểu thị bằng phần trăm.

3.2

Hàm lượng lignin xử lý bằng chất tẩy axit (acid detergent lignin content)

Hàm lượng ADL (ADL content)

Phần khối lượng còn lại sau khi hòa tan xenluloza và chất hữu cơ khác bằng axit sulfuric 72 % khối lượng (12,00 mol/l).

CHÚ THÍCH: Phần khối lượng ADL được biểu thị bằng phần trăm.

4 Nguyên tắc

ADF được xác định trong giai đoạn đầu của phương pháp.

Dung dịch chất tẩy cation được dùng để loại bỏ cacbohydrat không bền trong axit, protein mà không tạo phức thành các sản phẩm Maillard (bị hư hỏng do nhiệt) và các chất béo. Xơ còn lại hầu hết là xenluloza và lignin (trong các sản phẩm thực vật) hoặc các hỗn hợp protein không tan (trong các sản phẩm động vật và các loại thức ăn chăn nuôi bị hư hỏng do nhiệt). Phần còn lại được cân để xác định ADF.

Ở giai đoạn thứ hai, phần còn lại được hòa tan bằng axit sulfuric 72 % khối lượng (12,00 mol/l), lignin (ADL) còn lại được xác định bằng phương pháp khối lượng.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích và chỉ sử dụng nước cất hoặc nước đã loại khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có qui định khác.

5.1 Dung dịch chất tẩy axit. Thêm 20 g xety(trimetyl) amoni bromua (loại kỹ thuật) vào 1 lít axit sulfuric 0,5 mol/l đã được chuẩn hóa trước. Khuấy để hòa tan dung dịch.

5.2 Axit sulfuric, 72 % khối lượng (12,00 mol/l)

Chuẩn hóa axit sulfuric (H_2SO_4) đến khi có tỷ trọng tương đối là 1,634 ở 20 °C hoặc nồng độ 12 mol/l như sau.

Tính khối lượng của axit, $m(\text{H}_2\text{SO}_4)$, bằng gam và khối lượng của nước, $m(\text{H}_2\text{O})$ bằng gam, cần để chuẩn bị 1 000 ml dung dịch, dùng Công thức (1) và (2):

$$m(\text{H}_2\text{SO}_4) = \frac{100 \times 98,08 \times 12}{w(\text{H}_2\text{SO}_4)} \quad (1)$$

Trong đó, $w(\text{H}_2\text{SO}_4)$ là phần khối lượng của axit sulfuric thử nghiệm, được tính bằng phần trăm.

$$m(\text{H}_2\text{O}) = (1\,000 \times 1,634) - m(\text{H}_2\text{SO}_4) \quad (2)$$

Trong đó 1,634 là tỷ trọng tương đối của axit sulfuric 72 % khối lượng.

Cân nước cho vào bình định mức 1 000 ml và bổ sung từ từ lượng axit sulfuric đã tính được, thỉnh thoảng khuấy. Trong khi làm nguội bình trong nồi cách thủy, bổ sung khối lượng axit yêu cầu. Để nguội đến 20 °C và kiểm tra lại thể tích. Mặt khum phải nằm trong 0,5 cm của vạch chỉ định ở 20 °C. Nếu thể tích quá lớn, loại bỏ 5 ml nước và thêm 4,55 ml axit sulfuric. Nếu thể tích quá nhỏ, loại bỏ 1,5 ml axit sulfuric và thêm 2,5 ml nước. Lặp lại nếu cần.

5.3 Chất trợ lọc, đất diatomit¹⁾.

5.4 Axeton, loại kỹ thuật.

5.5 *n*-Octanol, chất chống tạo bọt.

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

6.1 Cân phân tích.

6.1.1 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 1 mg, có thể đọc đến 0,1 mg.

6.1.2 Cân phân tích, có dải cân lên đến 2 500 g, có thể đọc đến 1 g, để cân axit sulfuric (5.2).

6.2 Máy nghiền, máy nghiền xoắn xoáy, máy nghiền cắt, máy nghiền quay hoặc loại tương đương, cho cỡ hạt trung bình 0,22 mm đến 0,26 mm.

6.3 Tủ sấy.

6.3.1 Tủ sấy thông khí, có khả năng hoạt động ở 103 °C ± 2 °C hoặc 130 °C ± 2 °C.

6.3.2 Tủ sấy thông khí, có khả năng duy trì nhiệt độ ở 60 °C ± 2 °C.

¹⁾ Celite, đã rửa axit và Celite 545 AW là các ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và trong tiêu chuẩn này không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm khác nếu chúng cho các kết quả tương tự.

Để làm khô mẫu ẩm nhanh mà không tăng hàm lượng xơ, có thể sử dụng tủ sấy chân không được duy trì ở $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.4 Thiết bị hồi lưu, có bộ phận gia nhiệt và bình ngưng tụ nước lạnh riêng. Mọi thiết bị thích hợp dùng cho phép xác định xơ thô hoặc xơ xử lý bằng chất tẩy trung tính và amylaza (aNDF) đều có thể được chấp nhận. Hiệu chỉnh bộ gia nhiệt sao cho 50 ml nước sôi trong 4 min đến 5 min khi sử dụng bình ngưng tụ nước lạnh. Có thể dùng thiết bị kiểu Fibertec²⁾ và cần đun sôi 50 ml nước trong 10 min.

CHÚ THÍCH Bộ gia nhiệt này có thể cho kết quả về sự dịch chuyển đáng kể các phân tử trong suốt quá trình hồi lưu.

6.5 Chén nung dạng đĩa thủy tinh thiêu kết. Chén thủy tinh xốp (cỡ lỗ 40 μm đến 60 μm) dung tích 40 ml đến 50 ml hoặc loại Fibertec P2²⁾ (cỡ lỗ 40 μm đến 100 μm , dung tích 26 ml đến 28 ml). Làm sạch chén nung mới và tro hóa ở $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 1 h. Làm sạch chén nung sau mỗi lần sử dụng bằng cách tro hóa ở $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 3 h, loại bỏ tro bằng cách nhúng trong dung dịch chất tẩy và siêu âm (sonicating) trong 7 min đến 10 min. Tráng chén nung trong nước nóng và ngâm trong nước ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 30 min.

Đôi khi xác định tốc độ lọc như sau. Đổ đầy từng chén nung bằng 50 ml nước cất (25 ml đối với chén Fibertec P2²⁾) và ghi lại thời gian cần để làm khô hết mà không cần hút chân không [phải là $180\text{ s} \pm 60\text{ s}$ đối với chén Gooch²⁾] hoặc $75\text{ s} \pm 30\text{ s}$ đối với chén P2]. Nếu thời gian làm khô nhỏ hơn 100 s (hoặc nhỏ hơn 30 s đối với chén P2), thì loại bỏ chén. Nếu thời gian làm khô nhỏ hơn 120 s (hoặc nhỏ hơn 45 s đối với chén P2), thì kiểm tra các vết nứt trên đĩa thủy tinh thiêu kết. Nếu thời gian lọc lớn hơn 240 s (hoặc lớn hơn 105 s đối với chén P2), thì làm sạch chén nung bằng dung dịch làm sạch kiềm hoặc axit (Tài liệu tham khảo [4]). Nếu việc làm sạch không cải thiện được tốc độ lọc thì loại bỏ chén nung.

6.6 Thiết bị lọc chân không. Các thiết bị thích hợp [ví dụ: bộ phận chiết lạnh kiểu Fibertec²⁾] cho phép ngâm đủ phần xơ còn lại.

6.7 Lò nung, nhiệt độ $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.8 Cốc có mỏ dùng cho bộ hồi lưu, để thay thế thiết bị hồi lưu (6.4), nên dùng cốc có mỏ Berzelius dung tích 600 ml có bộ phận ngưng tụ, ví dụ: có thể dùng bình thủy tinh đáy tròn 500 ml.

7 Lấy mẫu

Mẫu đại diện phải được gửi đến phòng thử nghiệm. Mẫu không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 4325 (ISO 6497).

²⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn và trong tiêu chuẩn này không ấn định phải sử dụng chúng.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6952 (ISO 6498).

Giảm mẫu phòng thử nghiệm đến khoảng 100 g (tương đương khối lượng chất khô) và cho một nửa vào trong hộp chứa cách ẩm được hàn kín để xác định độ ẩm. Sấy mẫu ẩm còn lại (độ ẩm lớn hơn 15 % khối lượng) trong tủ sấy thông khí (6.3.2) ở dưới 60 °C cho đến khi độ ẩm nhỏ hơn 15 % khối lượng. Việc sấy ở dưới 60 °C là cần thiết để tránh sự hình thành xơ và lignin dương tính giả. Dùng máy nghiền (6.2) để nghiền mẫu thử khô (độ ẩm nhỏ hơn 15 % khối lượng).

Các mẫu trong đó hầu hết là chất xơ được nghiền riêng qua sàng lần cuối cùng. Không loại bỏ mẫu trong máy nghiền mà cho vào mẫu thử đã nghiền.

Cần phải chiết sơ bộ đối với các mẫu thử chứa chất béo lớn hơn 10 % khối lượng và nên thực hiện với các mẫu thử chứa chất béo lớn hơn 5 % khối lượng.

Cân mẫu thử cho vào chén nung đã được làm khô trong tủ sấy và được cân trước, đặt chén nung vào thiết bị lọc, chiết bốn lần, mỗi lần dùng 30 ml đến 40 ml axeton, để cho mẫu ngấm trong axeton từ 3 min đến 5 min trong mỗi lần chiết, hút chân không để loại bỏ hết axeton, làm khô trong không khí từ 10 min đến 15 min rồi chuyển phần còn lại vào cốc có mỏ của thiết bị hồi lưu để phân tích xơ. Đối với từng phần mẫu thử, sau khi chiết bằng chất tẩy axit, sử dụng cùng chén nung này để thu lấy phần xơ còn lại.

Đối với thiết bị kiểu Fibertec²⁾, đặt chén nung trong bộ phận chiết lạnh và đổ đầy chén bằng 25 ml axeton (5.4). Để yên trong 3 min đến 5 min và lọc trong chân không. Lặp lại ba lần.

CHÚ THÍCH: Để việc lọc đơn giản, có thể bổ sung 1,00 g chất trợ lọc (5.3) vào chén nung trước khi cho mẫu.

9 Cách tiến hành

9.1 ADF

9.1.1 Yêu cầu chung

Sấy khô chén rỗng trên 4 h [1 h nếu được lấy ra từ lò nung (6.7)] trong tủ sấy (6.3.1) ở 103 °C ± 2 °C và ghi lại khối lượng cả bì, m_1 .

9.1.3 Thiết bị thông thường

Cân 1 000 mg ± 2 mg phần mẫu thử đã sấy hoặc mẫu như khi nhận được cho vào cốc có mỏ Berzelius (6.8) và ghi lại khối lượng là m_2 .

TCVN 9589:2013

Đối với mẫu có độ ẩm lớn hơn 15 % khối lượng, cần điều chỉnh khối lượng để thu khối lượng chất khô tương đương. Nếu cần chuyển đổi các kết quả theo khối lượng chất khô, thì cân phần mẫu thử đối với phép xác định độ ẩm của mẫu thử ở cùng một thời điểm.

Ngay trước khi hồi lưu, thêm 100 ml dung dịch chất tẩy axit (5.1) ở nhiệt độ phòng. Đun sôi trên 5 min đến 10 min, giảm bớt nhiệt độ và thêm 2 giọt đến 4 giọt *n*-octanol (5.5) để tránh tạo bọt, nếu cần, nhưng phải để cho các hạt đảo trộn vừa phải. Sau 5 min đến 10 min hồi lưu, tráng thành cốc, dùng hơi của dung dịch chất tẩy axit (bổ sung không quá 5 ml). Cho hồi lưu trong 60 min \pm 5 min tính từ khi dung dịch bắt đầu sôi.

Lấy từng cốc có mở ra khỏi nguồn nhiệt, khuấy rồi lọc vào chén nung (6.5). Không đảo chiều cốc, dùng hơi của nước sôi để tráng hết các hạt trong chén. Loại bỏ chất tẩy axit và nước tráng, dùng mức chân không tối thiểu. Đóng chân không và đổ đầy chén nung khoảng 40 ml nước ở 90 °C đến 100 °C, khuấy để làm tan hết phần còn lại dính trên bộ lọc và ngâm trong 3 min đến 5 min. Lặp lại hai lần việc ngâm trong nước và sấy chân không. Tráng thành và đáy của chén nung để đảm bảo rằng đã hết axit (axit dư bị cô lại trong suốt quá trình sấy và làm cho quá trình tro hóa phần cặn và hàm lượng xơ thấp).

Cho 30 ml đến 40 ml axeton (5.4), khuấy tan hết các cục vón và để cho các phân tử tiếp xúc với axeton, ngâm trong 3 min đến 5 min và lặp lại thao tác này cho đến khi hết màu (thường ngâm trong axeton hai lần là đủ). Loại bỏ axeton còn sót lại bằng chân không, sấy quá 5 h, tốt nhất để qua đêm ở 103 °C \pm 2 °C trong tủ sấy thông khí (6.3.1), để nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm rồi cân. Ghi lại khối lượng là m_3 .

9.1.3 Thiết bị kiểu Fibertec²⁾

Cân phần mẫu thử đã sấy hoặc mẫu như khi nhận được có khối lượng 1 000 mg \pm 2 mg cho vào chén nung đã được sấy trước (6.5) có khối lượng bì là m_1 , và ghi lại khối lượng là m_2 . Để việc lọc đơn giản, có thể bổ sung 1,00 g chất trợ lọc (5.3) vào chén nung trước khi cho mẫu vào. Đặt chén nung vào bộ chiết Fibertec²⁾ nóng và thêm 100 ml dung dịch chất tẩy axit (5.1). Thêm 2 giọt đến 4 giọt *n*-octanol (5.5) để tránh tạo bọt và đun đến sôi. Tăng nhiệt và để sôi trong 60 min \pm 5 min. Tính thời gian từ khi dung dịch đạt đến điểm sôi.

Loại bỏ dung dịch chất tẩy axit và rửa ba lần bằng nước ở 90 °C đến 100 °C, mỗi lần dùng 30 ml nước và sấy chân không giữa các lần rửa.

Cho chén nung vào bộ phận chiết lạnh và đổ đầy chén nung bằng 25 ml axeton (5.4). Lọc. Lặp lại thao tác này thêm một lần nữa.

Làm bay hơi dung môi và sấy chén nung ở 130 °C \pm 2 °C trong 2 h hoặc ở 103 °C \pm 2 °C trong ít nhất 5 h. Để nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm và cân chính xác đến 0,000 1 g. Ghi lại khối lượng là m_3 .

9.2 ADL

9.2.1 Thiết bị thông thường

Đặt chén nung chứa xơ đã xử lý bằng chất tẩy axit vào trong cốc có mỏ 50 ml có giá đỡ hoặc xếp chén nung lên đĩa men nung. Phủ lên mẫu trong chén bằng axit sulfuric (5.2) được làm nguội đến 15 °C và khuấy bằng đũa thủy tinh để làm mềm và làm vỡ các cục bị vón. Đổ axit vào chén nung đến một nửa chén và khuấy. Để đũa thủy tinh trong chén nung; lại đổ axit sulfuric (5.2) đã làm nguội đến 15 °C và khuấy hàng giờ cho khô axit, giữ chén nung ở 20 °C đến 23 °C (làm nguội, nếu cần). Sau 3 h, có thể lọc hết bằng chân không và rửa bằng nước nóng cho đến khi không còn axit, kiểm tra bằng giấy quỳ. Tráng thành chén và lấy đũa khuấy ra. Sấy chén nung ở 130 °C ± 2 °C trong 2 h hoặc 103 °C ± 2 °C trong ít nhất 5 h, làm nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm và cân. Ghi lại khối lượng là m_4 . Nung chén ở 525 °C ± 15 °C trong ít nhất 3 h hoặc cho đến khi không còn cacbon. Làm nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm và cân. Ghi lại khối lượng là m_5 .

9.2.2 Thiết bị kiểu Fibertec²⁾

Đặt đũa thủy tinh vào trong chén nung để khuấy. Thêm 25 ml axit sulfuric (5.2) được làm lạnh đến 15 °C. Khuấy bằng đũa thủy tinh và lọc hết sau 3 h. Khuấy sau mỗi giờ. Cách khác, dùng áp lực ngược để làm vỡ các cục vón. Rửa bằng nước cho đến khi hết axit. Sấy chén nung ở 130 °C ± 2 °C trong 2 h hoặc ở 103 °C ± 2 °C trong ít nhất 5 h. Làm nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm và cân. Ghi lại khối lượng là m_4 . Nung chén ở 525 °C ± 15 °C trong ít nhất 3 h hoặc cho đến khi không còn cacbon. Làm nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm và cân. Ghi lại khối lượng là m_5 .

9.3 Đảm bảo chất lượng

9.3.1 Đối với 20 đến 30 mẫu đầu tiên khi chạy phân tích, gồm có ít nhất một mẫu chuẩn nội bộ hoặc một mẫu kiểm soát chất lượng (QC) và hai mẫu trắng và cứ mỗi lần bổ sung 20 đến 30 mẫu thì lại lấy thêm một mẫu QC và một mẫu trắng.

9.3.2 Mỗi lần chạy phân tích, gồm có ít nhất một bộ mẫu kép nếu tiến hành các phép xác định đơn lẻ. Các mẫu kép không được chạy liên tiếp mà cho một mẫu chạy đầu tiên và một mẫu chạy cuối cùng.

9.3.3 Sự thay đổi khối lượng của chén nung rỗng phải nhỏ hơn 0,010 0 g sau khi chiết hoặc tro hóa. Nếu khối lượng của chén nung rỗng thay đổi trên 10 mg hoặc khối lượng chén nung sau khi tro hóa nhỏ hơn chén nung rỗng, thì việc làm sạch chén nung gần như chưa đủ và/hoặc có vấn đề trong kỹ thuật cân.

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 ADF

TCVN 9589:2013

Tính hàm lượng ADF theo khối lượng nhận được, w_1 , được biểu thị bằng phần trăm khối lượng, dùng Công thức (3) hoặc hàm lượng ADF theo chất khô, w_2 , được biểu thị bằng phần trăm khối lượng, dùng Công thức (4).

Đối với các mẫu chưa sấy (mẫu thử có cùng độ ẩm như mẫu phòng thử nghiệm):

$$w_1 = 100 \times \frac{(m_3 - m_1) - (\bar{m}_{b2} - \bar{m}_{b1})}{m_2} \quad (3)$$

Đối với mẫu đã sấy (mẫu phòng thử nghiệm được sấy để chuẩn bị mẫu thử):

$$w_2 = 100 \times \frac{(m_3 - m_1) - (\bar{m}_{b2} - \bar{m}_{b1})}{m_2 w_d} \quad (4)$$

Trong đó:

m_1 là khối lượng của chén nung, tính bằng gam (g);

m_2 là khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam (g);

m_3 là khối lượng của chén nung và phần còn lại, tính bằng gam (g);

\bar{m}_{b1} là khối lượng trung bình của tất cả các mẫu trắng sau khi sấy trong tủ sấy trước khi chiết bằng chất tẩy axit, tính bằng gam (g);

\bar{m}_{b2} là khối lượng trung bình của tất cả các mẫu trắng sau khi sấy trong tủ sấy sau khi chiết bằng chất tẩy axit, tính bằng gam (g);

w_d là phần trăm khối lượng của chất khô chia cho 100.

10.2 ADL

Tính hàm lượng ADL (lignin trong H_2SO_4) theo khối lượng như khi mẫu nhận được, w_3 , được biểu thị bằng phần trăm khối lượng, sử dụng Công thức (5) hoặc hàm lượng ADL (lignin H_2SO_4) tính theo chất khô, w_4 , được biểu thị bằng phần trăm khối lượng, sử dụng Công thức (6).

Đối với các mẫu chưa sấy (mẫu thử có cùng độ ẩm như mẫu phòng thử nghiệm):

$$w_3 = 100 \times \frac{(m_4 - m_2) - (\bar{m}_{b3} - \bar{m}_{b4})}{m_2} \quad (5)$$

Đối với các mẫu đã sấy (mẫu phòng thử nghiệm đã sấy để chuẩn bị mẫu thử):

$$w_2 = 100 \times \frac{(m_4 - m_5) - (\bar{m}_{b3} - \bar{m}_{b4})}{m_2 w_d} \quad (6)$$

Trong đó:

\bar{m}_{b3} là khối lượng trung bình của tất cả các mẫu trắng sau khi sấy trong tủ sấy trước khi hóa tro, tính bằng gam (g);

\bar{m}_{b4} là khối lượng trung bình của tất cả các mẫu trắng sau khi sấy trong tủ sấy sau khi tro hóa, tính bằng gam (g);

m_4 là khối lượng của của chén nung và phần còn lại sau khi sấy, tính bằng gam (g);

m_5 là khối lượng của chén nung sau khi tro hóa, tính bằng gam (g).

10.3 Biểu thị kết quả

Các kết quả của phần khối lượng phải được báo cáo chính xác đến 0,1 % và các kết quả ADF nhỏ hơn 1,0 % hoặc ADL nhỏ hơn 1,5 % phải được báo cáo là "ADF < 1,0 %" hoặc "ADL < 1,5 %".

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Chi tiết phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục A. Các giá trị được thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng cho các dải nồng độ và các chất nền khác với các dải nồng độ và các chất nền đã cho.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử nghiệm độc lập, riêng rẽ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu giống thử hết nhau, trong cùng phòng thử nghiệm, do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong cùng một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giá trị giới hạn lặp lại tính được, dùng Công thức (7) và (8):

$$r_{ADF} = 0,029 \bar{w}_{ADF} + 0,715 \quad (7)$$

$$r_{ADL} = 0,058 \bar{w}_{ADL} + 0,450 \quad (8)$$

Trong đó, \bar{w}_{ADF} và \bar{w}_{ADL} là trung bình của hai kết quả liên phòng thử nghiệm tương ứng thu được trong các điều kiện lặp lại đối với hàm lượng ADF và hàm lượng ADL, được biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

TCVN 9589:2013

Công thức (7) và (8) đã tính được đối với phần khối lượng ADF từ 3,5 % đến 73 % và đối với hàm lượng ADL từ 1,5 % đến 20 %.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối các kết quả của hai phép thử nghiệm riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu giống thử hết nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không vượt quá 5 % các trường hợp vượt quá giá trị giới hạn tái lập đã được tính, sử dụng Công thức (9) và (10).

$$R_{ADF} = 0,077 \bar{w}_{ADF} + 1,365 \quad (9)$$

$$R_{ADL} = 0,041 \bar{w}_{ADL} + 1,294 \quad (10)$$

Trong đó, \bar{w}_{ADF} và \bar{w}_{ADL} là trung bình của hai kết quả thu được tương ứng trong các điều kiện tái lập đối với hàm lượng ADF và hàm lượng ADL, được biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

Công thức (9) và (10) tính được đối với phần khối lượng ADF từ 3,5 % đến 73 % và đối với hàm lượng ADL từ 1,5 % đến 20 %.

11.4 Chênh lệch tới hạn

11.4.1 Yêu cầu chung

Khi đánh giá chênh lệch giữa hai giá trị trung bình thu được từ hai kết quả thử nghiệm trong các điều kiện lặp lại, thì không thể sử dụng giới hạn lặp lại, cần thay bằng chênh lệch tới hạn (CD).

11.4.2 So sánh hai nhóm phép đo trong một phòng thử nghiệm

CD giữa hai giá trị trung bình thu được từ hai phép thử trong các điều kiện lặp lại bằng:

$$CD = 2,77 s_r \sqrt{\frac{1}{2n_1} + \frac{1}{2n_2}} = 2,77 s_r \frac{1}{\sqrt{2}} = 1,96 s_r \quad (11)$$

Trong đó:

s_r là độ lệch chuẩn lặp lại.

n_1, n_2 là số lượng các kết quả thử nghiệm tương ứng với từng giá trị trung bình (ở đây, $n_1 = n_2 = 2$).

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai giá trị trung bình thu được từ hai kết quả thử nghiệm trong các điều kiện lặp lại không được quá 5 % trường hợp lớn hơn CD được tính từ Công thức (12) và (13):

$$CD(ADF) = 0,02 \bar{w}_{ADF} + 0,49 \quad (12)$$

$$CD(ADL) = 0,04 \bar{w}_{ADL} + 0,31 \quad (13)$$

Trong đó, \bar{w}_{ADF} và \bar{w}_{ADL} là trung bình của hai kết quả thử liên phòng thử nghiệm đối với hàm lượng ADF và hàm lượng ADL, tương ứng, được biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

Công thức (12) và (13) đã tính được đối với phần khối lượng ADF từ 3,5 % đến 73 % và đối với hàm lượng ADL từ 1,5 % đến 20 %.

11.4.3 So sánh hai nhóm phép đo trong hai phòng thử nghiệm

CD giữa hai giá trị trung bình thu được trong hai phòng thử nghiệm khác nhau từ hai kết quả thử nghiệm trong các điều kiện lặp lại, được tính bằng:

$$CD = 2,77 \sqrt{s_R^2 - s_r^2 \left(1 - \frac{1}{2n_1} - \frac{1}{2n_2}\right)} = 2,77 \sqrt{s_R^2 - 0,5s_r^2} \quad (14)$$

Trong đó s_R là độ lệch chuẩn tái lập.

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai giá trị trung bình thu được trong hai phòng thử nghiệm khác nhau từ hai kết quả thử nghiệm dưới các điều kiện lặp lại không được quá 5 % trường hợp lớn hơn CD được tính từ Công thức (15) và (16):

$$CD(ADF) = 0,07 \bar{w}_{ADF} + 1,25 \quad (15)$$

Trong đó \bar{w}_{ADF} là trung bình của hai kết quả liên phòng thử nghiệm đối với hàm lượng ADF, tính bằng phần trăm khối lượng.

$$CD(ADL) = 1,44 \quad (16)$$

Công thức (15) và (16) đã tính được đối với phần khối lượng ADF từ 3,5 % đến 73 % và đối với hàm lượng ADL từ 1,5 % đến 20 %.

11.5 Độ không đảm bảo đo

Độ không đảm bảo đo, u_e , là thông số diễn giải sự phân bố của các giá trị mà có thể cho kết quả hợp lý. Độ không đảm bảo đo này được đưa ra theo sự phân bố thống kê của các kết quả từ phép thử liên phòng thử nghiệm và được đặc trưng bởi độ lệch chuẩn thực nghiệm.

Độ không đảm bảo đo được tính bằng cộng hoặc trừ hai lần độ lệch chuẩn tái lập cho trong tiêu chuẩn này, nghĩa là:

$$u_e = \pm 0,055w_{ADF} + 0,974 \quad (17)$$

đối với ADF cho sản phẩm có phần khối lượng ADF, w_{ADF} , từ 3,5 % đến 73 %;

$$u_e = \pm 1,15 \% \quad (18)$$

đối với ADL cho sản phẩm có phần khối lượng ADL từ 1,5 % đến 20 %.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc các tùy chọn cũng như các sự cố bất kỳ có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm;
- e) kết quả thử nghiệm thu được;
- f) nếu kiểm tra độ lặp lại, thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

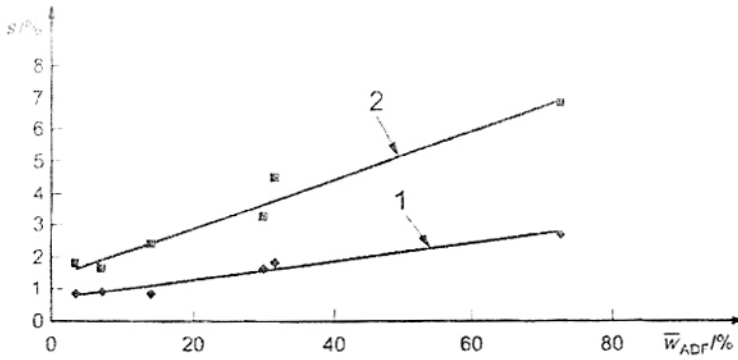
Phép thử liên phòng thử nghiệm đã được tổ chức vào tháng 3 đến tháng 4 năm 2006 bởi công ty Foss và được tiến hành theo TCVN 6910-2 (ISO 5725-2). Trong phép thử này, có 22 phòng thử nghiệm đã tham gia, trong đó hai phòng thử nghiệm đã bị loại trừ vì không phù hợp với phương pháp dự kiến. Sáu mẫu mù đã được kiểm tra đánh giá hai lần, gồm có: mùn cưa, lúa mì, thức ăn cho bò, bột đậu tương, cỏ ba lá đã ủ xilô và cỏ đã ủ xilô. Báo cáo nghiên cứu được cung cấp từ thư ký của Ban kỹ thuật ISO TC 34/SC 10.

Bảng A.1 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm đối với ADF

| Thông số | Mẫu | | | | | |
|---|-------------------|---------------|--------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|
| | A (mùn cưa) | B (lúa mì) | C (thức ăn cho bò) | D (bột đậu tương) | E (cỏ ba lá đã ủ xilô) | F (cỏ đã ủ xilô) |
| Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi loại trừ ngoại lệ | 18 | 17 | 17 | 16 | 16 | 19 |
| Giá trị trung bình, g/100 g | 72,56 | 3,53 | 14,07 | 7,24 | 29,95 | 31,41 |
| Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g | 0,972 | 0,302 | 0,302 | 0,334 | 0,576 | 0,654 |
| Hệ số biến thiên lặp lại, % | 1,3 | 8,8 | 2,1 | 4,6 | 1,9 | 2,1 |
| Giới hạn lặp lại, $r(2,8s_r)$, g/100 g | 2,722 | 0,873 | 0,846 | 0,936 | 1,613 | 1,832 |
| Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g | 2,447 | 0,644 | 0,853 | 0,579 | 1,159 | 1,607 |
| Hệ số biến thiên tái lập, % | 3,4 | 18,3 | 6,1 | 8,0 | 3,9 | 5,1 |
| Giới hạn tái lập, $R(2,8s_R)$, g/100 g | 6,852 | 1,802 | 2,387 | 1,631 | 3,244 | 4,501 |

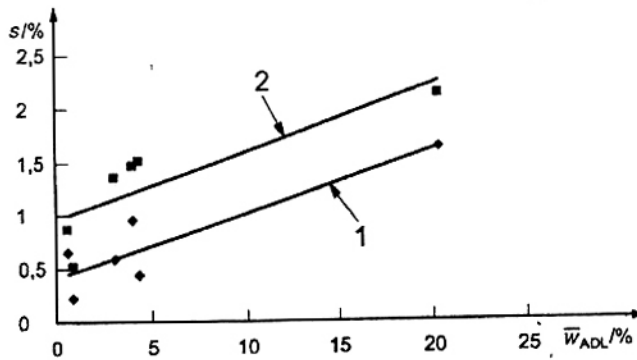
Bảng A.2 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm đối với ADL

| Thông số | Mẫu | | | | | |
|--|-------------------|---------------|--------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|
| | A (mùn cưa) | B (lúa mì) | C (thức ăn cho bò) | D (bột đậu tương) | E (cỏ ba lá đã ủ xilô) | F (cỏ đã ủ xilô) |
| Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi loại trừ ngoại lệ | 19 | 13 | 19 | 15 | 17 | 17 |
| Giá trị trung bình, g/100 g | 20,31 | 0,89 | 4,29 | 0,59 | 3,94 | 3,02 |
| Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g | 0,604 | 0,081 | 0,159 | 0,233 | 0,343 | 0,212 |
| Hệ số biến thiên lặp lại, % | 3,0 | 9,1 | 3,7 | 39,4 | 8,5 | 7,0 |
| Giới hạn lặp lại, $r(2,8s_r)$, g/100 g | 1,632 | 0,227 | 0,446 | 0,653 | 0,961 | 0,593 |
| Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g | 0,757 | 0,187 | 0,541 | 0,309 | 0,524 | 0,486 |
| Hệ số biến thiên tái lập, % | 3,7 | 21,1 | 12,6 | 52,3 | 13,0 | 16,1 |
| Giới hạn tái lập, $R(2,8s_R)$, g/100 g | 2,119 | 0,524 | 1,516 | 0,866 | 1,468 | 1,362 |
| <p>CHÚ THÍCH 1: Đối với mẫu B và mẫu D, số lượng phòng thử nghiệm sau khi trừ ngoại lệ ít hơn vì thực tế giá trị trung bình đối với các mẫu này có giới hạn định lượng thấp và do vậy một số phòng thử nghiệm đã báo cáo giới hạn định lượng nhỏ hơn 1,5 %. Các giá trị đối với các mẫu này không được xem xét khi tính các giá trị độ chụm nêu trong Điều 11.</p> <p>CHÚ THÍCH 2: Hệ số biến thiên của độ lặp lại và độ tái lập chỉ để tham khảo.</p> | | | | | | |



CHÚ DẪN

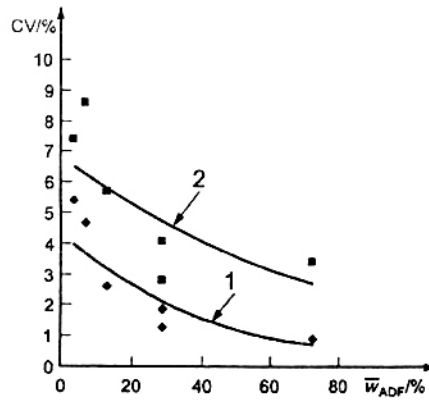
- 1 giới hạn lặp lại, $r = 2,8s_r = 0,028 \bar{W}_{ADF} + 0,7147$; $R^2 = 0,95226$
 2 giới hạn tái lập, $R = 2,8s_R = 0,077 \bar{W}_{ADF} + 1,3652$; $R^2 = 0,95907$
 s độ lệch chuẩn
 \bar{W}_{ADF} trung bình phần trăm khối lượng ADF

Hình A.1 – Độ lặp lại, r , và độ tái lập, R , các giới hạn đối với phép xác định ADF

CHÚ DẪN

- 1 giới hạn lặp lại, $r = 2,8s_r = 0,0596 \bar{W}_{ADL} + 0,4237$; $R^2 = 0,82724$
 2 giới hạn tái lập, $R = 2,8s_R = 0,0625 \bar{W}_{ADL} + 0,9651$; $R^2 = 0,80038$
 s độ lệch chuẩn
 \bar{W}_{ADL} trung bình phần trăm khối lượng ADL

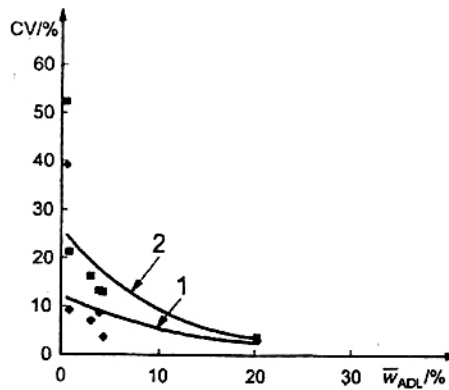
Hình A.2 – Độ lặp lại, r và độ tái lập, R các giới hạn đối với phép xác định với ADL



CHÚ DẪN

- 1 hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r) = 4,8388$ dự kiến $(-0,0213 \overline{W_{ADF}})$; $R^2 = 0,5936$
- 2 hệ số biến thiên tái lập, $CV(R) = 10,145$ dự kiến $(-0,0186 \overline{W_{ADF}})$; $R^2 = 0,5943$
- CV hệ số biến thiên
- $\overline{W_{ADF}}$ trung bình phần trăm khối lượng ADF

Hình A.3 – Hệ số biến thiên của độ lặp lại, CV(r) và độ tái lập, CV(R), đối với phép xác định ADF



CHÚ DẪN

- 1 hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r) = 12,215$ dự kiến $(-0,0798 \overline{W_{ADL}})$; $R^2 = 0,422$
- 2 hệ số biến thiên tái lập, $CV(R) = 26,124$ dự kiến $(-0,1022 \overline{W_{ADL}})$; $R^2 = 0,7815$
- CV hệ số biến thiên
- $\overline{W_{ADL}}$ trung bình phần trăm khối lượng ADL

Hình A.4 – Hệ số biến thiên của độ lặp lại, CV(r) và của độ tái lập, CV(R), đối với phép xác định ADL

Phụ lục B

(Tham khảo)

Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Thay vì xác định liên tiếp, ADF, ADL và ADF có thể cũng được xác định đơn lẻ. Trong trường hợp này, có thể hiệu chỉnh đối với hàm lượng tro sau khi xác định ADF. Các kết quả được tham chiếu với ADF rồi hiệu chỉnh đối với hàm lượng tro.

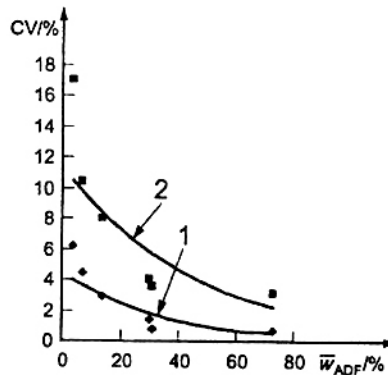
Phép thử liên phòng thử nghiệm đã được tổ chức vào tháng 3 đến tháng 4 năm 2006 bởi công ty Foss và được tiến hành theo TCVN 6910-2 (ISO 5725-2). Trong phép thử này có 22 phòng thử nghiệm tham gia, trong đó hai phòng thử nghiệm đã bị loại trừ vì không phù hợp với phương pháp dự kiến. Sáu mẫu mù đã được kiểm tra đánh giá hai lần, gồm có: mùn cưa, lúa mì, thức ăn cho bò, bột đậu tương, cỏ ba lá đã ủ xilô và cỏ đã ủ xilô. Phép thử liên phòng thử nghiệm đã được tiến hành đồng thời với cùng một mẫu, phép thử được báo cáo trong Phụ lục A. Báo cáo nghiên cứu được cung cấp từ thư ký của Ban kỹ thuật ISO TC 34/SC 10.

Bảng B.1 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm riêng đối với ADF

| Thông số | Mẫu | | | | | |
|---|----------------|---------------|-----------------------|----------------------|---------------------------|---------------------|
| | A (mùn cưa) | B (lúa mì) | C (thức ăn cho bò) | D (bột đậu tương) | E (cỏ ba lá đã ủ xilô) | F (cỏ đã ủ xilô) |
| Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi loại trừ ngoại lệ | 18 | 17 | 19 | 19 | 18 | 18 |
| Giá trị trung bình, g/100 g | 72,96 | 3,71 | 13,80 | 7,20 | 29,90 | 31,29 |
| Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g | 0,55 | 0,23 | 0,4 | 0,32 | 0,42 | 0,26 |
| Hệ số biến thiên lặp lại, % | 0,75 | 6,2 | 2,9 | 4,5 | 1,4 | 0,8 |
| Giới hạn lặp lại, $r(2,8s_r)$, g/100 g | 1,53 | 0,65 | 1,11 | 0,91 | 1,17 | 0,73 |
| Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g | 2,26 | 0,63 | 1,11 | 0,75 | 1,19 | 1,14 |
| Hệ số biến thiên tái lập, % | 3,1 | 17 | 8 | 10,4 | 4 | 3,6 |
| Giới hạn tái lập, $R(2,8s_R)$, g/100 g | 6,31 | 1,76 | 3,1 | 2,1 | 3,33 | 3,2 |

Bảng B.2 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm đối với ADF, đã hiệu chỉnh hàm lượng tro

| Thông số | Mẫu | | | | | |
|---|-------------------|---------------|--------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|
| | A (mùn cưa) | B (lúa mì) | C (thức ăn cho bò) | D (bột đậu tương) | E (cỏ ba lá đã ủ xilô) | F (cỏ đã ủ xilô) |
| Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi loại trừ ngoại lệ | 19 | 17 | 18 | 17 | 18 | 17 |
| Giá trị trung bình, g/100 g | 72,48 | 3,48 | 13,16 | 7,02 | 29,01 | 28,86 |
| Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g | 0,67 | 0,19 | 0,35 | 0,33 | 0,56 | 0,36 |
| Hệ số biến thiên lặp lại, % | 0,9 | 5,4 | 2,6 | 4,7 | 1,9 | 1,3 |
| Giới hạn lặp lại, $r(2,8s_r)$, g/100 g | 1,86 | 0,53 | 0,97 | 0,93 | 1,56 | 1,01 |
| Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g | 2,47 | 0,26 | 0,75 | 0,6 | 0,2 | 0,81 |
| Hệ số biến thiên tái lập, % | 3,4 | 7,4 | 5,7 | 8,6 | 4,1 | 2,8 |
| Giới hạn tái lập, $R(2,8s_R)$, g/100 g | 6,90 | 0,72 | 2,10 | 1,68 | 3,35 | 2,27 |

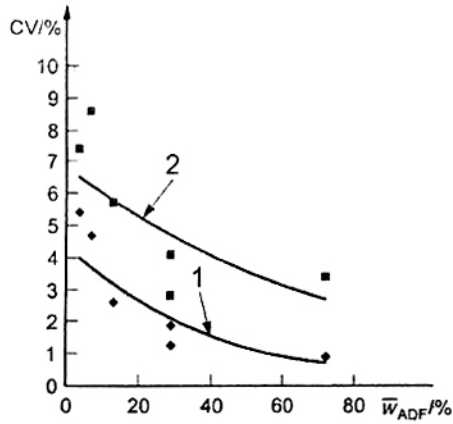


CHÚ DẪN

- 1 hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r) = 4,468$ 1 dự kiến $(-0,03 \bar{w}_{ADF})$; $R^2 = 0,728$ 7
- 2 hệ số biến thiên tái lập, $CV(R) = 11,399$ dự kiến $(-0,022$ 3 $\bar{w}_{ADF})$; $R^2 = 0,699$ 2
- CV hệ số biến thiên

\bar{w}_{ADF} trung bình phần trăm khối lượng ADF

Hình B.1 – Hệ số biến thiên đối với phép xác định riêng ADF như là một hàm số của nồng độ đã xác định



CHÚ DẪN

- 1 hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r) = 4,3608$ dự kiến $(-0,025 \bar{W}_{ADF})$; $R^2 = 0,8024$
 2 hệ số biến thiên tái lập, $CV(R) = 6,8282$ dự kiến $(-0,0128 \bar{W}_{ADF})$; $R^2 = 0,5308$
 CV hệ số biến thiên
 \bar{W}_{ADF} trung bình phần trăm khối lượng ADF

Hình B.2 – Hệ số biến thiên đối với phép xác định ADF, đã hiệu chỉnh làm lượng tro như là một hàm số của nồng độ đã xác định

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6910-1 (ISO 5725-1), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung.*
- [2] TCVN 6910-2 (ISO 5725-2), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.*
- [3] TCVN 4325 (ISO 6497), *Thức ăn chăn nuôi – Lấy mẫu.*
- [4] GEORING, H.K. VAN SOEST, P.J. *Forage fiber analysis: Apparatus, reagents, procedures, and some applications.* USDA Agricultural Research Service, Washington, DC, 1970. 20 p. (*Agriculture Handbook*, No. 379.)
- [5] AOAC INTERNATIONAL. Method 973.18: Fiber (acid detergent) and lignin in animal feed. In: *Official methods of analysis*, 17th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 2000. Available (2008-01-22) from: <http://www.eoma.aoac.org>
- [6] VAN SOEST, P.J. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *J.AOAC* 1973, **56**, pp.781-784
- [7] VAN SOEST, P.J. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. *J.AOAC* 1963, **46**, pp.829-835
-