

P. STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÉHO FOSFORU

FOTOMETRICKÁ METODA**1. Účel a rozsah**

Tato metoda umožňuje stanovení obsahu celkového fosforu v krmivech. Je vhodná především pro zkoušení krmiv s nízkým obsahem fosforu. V určitých případech (u produktů s vysokým obsahem fosforu) je možno použít gravimetrickou metodu.

2. Princip

Vzorek se mineralizuje buď suchou cestou (zejména u organických krmiv), nebo mokrou cestou (zejména u minerálních sloučenin a tekutých krmiv), a převede se do kyselého roztoku. K tomuto roztoku se přidá molybdatovanadátové činidlo. Absorbance žlutě zbarveného roztoku se měří při 430 nm pomocí spektrofotometru.

3. Chemikálie

3.1 Uhličitan vápenatý.

3.2 Kyselina chlorovodíková, $\rho_{20} = 1,10$ g/ml (přibližně 6 mol/l).

3.3 Kyselina dusičná, $\rho_{20} = 1,045$ g/ml.

3.4 Kyselina dusičná, $\rho_{20} = 1,38-1,42$ g/ml.

3.5 Kyselina sírová, $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.

3.6 Molybdatovanadátové činidlo: v odměrné baňce o objemu 1 l se smíchá 200 ml roztoku heptamolybdenanu amonného (3.6.1) s 200 ml roztoku vanadičnanu amonného (3.6.2) a se 134 ml kyseliny dusičné (3.4) a doplní se vodou po značku.

3.6.1 Roztok heptamolybdenanu amonného: 100 g heptamolybdenanu amonného $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí v horké vodě. Přidá se 10 ml amoniaku (hustota 0,91g/ml) a doplní se vodou na 1 litr.

3.6.2 Roztok vanadičnanu amonného: 2,35 g vanadičnanu amonného NH_4VO_3 se rozpustí ve 400 ml horké vody. Za stálého míchání se pomalu přilévá 20 ml zředěné kyseliny dusičné (7 ml HNO_3 (3.4) + 13 ml H_2O) a doplní se vodou na 1 litr.

3.7 Standardní roztok 1 mg fosforu na ml: 4,387 g dihydrogenfosforečnanu draselného KH_2PO_4 se rozpustí ve vodě. Doplní se vodou na 1 litr.

4. Přístroje a pomůcky

4.1 Křemenné, porcelánové nebo platinové spalovací kelímky.

4.2 Elektrická muflová pec s termostatem, regulovaná na teplotu 550 °C.

4.3 Kjeldahlova baňka, 250 ml.

4.4 Odměrné baňky a přesné pipety.

4.5 Spektrofotometr.

4.6 Zkumavky, průměr asi 16 mm, se zátkou o průměru 14,5 mm; objem: 25–30 ml.

5. Postup

5.1 Příprava roztoku

Podle druhu vzorku se připraví roztok způsobem, který je uveden v bodě 5.1.1 nebo 5.1.2.

5.1.1 Obvyklý postup

Do Kjeldahlovy baňky se navází 1 g nebo větší množství vzorku s přesností na 1 mg. Přidá se 20 ml kyseliny sírové (3.5), baňka se důkladně protřepe, aby se vzorek a kyselina dobře spojily a aby se zabránilo usazování vzorku na stěnách baňky; pak se roztok zahřeje a 10 minut vaří. Po mírném ochlazení se přidají 2 ml kyseliny dusičné (3.4); slabě se zahřeje a opět mírně ochladí. Pak se opět přidá trochu kyseliny dusičné (3.4) a uvede se opět do varu. Postup se opakuje tolikrát, až se získá čirý roztok. Potom se ochladí, přidá se trochu vody, kapalina se převede do 500 ml odměrné baňky a Kjeldahlova baňka se vypláchne horkou vodou. Po ochlazení se baňka doplní vodou po značku, homogenizuje a přefiltruje.

5.1.2 Postup pro vzorky, které obsahují organické látky, ale neobsahují dihydrogenfosforečnan vápenatý a hořečnatý

Do spalovacího kelímku se navází přibližně 2,5 g vzorku s přesností na 1 mg a dokonale se promíchá s 1 g uhličitanu vápenatého (3.1). V muflové peci se spaluje při teplotě 550 °C tak dlouho, dokud se nezíská popel bílé nebo šedé barvy (malé množství uhlíkatých částic není na závadu). Popel se převede do 250 ml kádinky, přidá se 20 ml vody a potom se přidává kyselina chlorovodíková (3.2), dokud neustane pění; nakonec se přidá dalších 10 ml kyseliny chlorovodíkové (3.2). Kádinka se postaví na pískovou lázeň a odpaří se do sucha, aby se vyloučily křemičitany. Zbytek se rozpustí v 10 ml kyseliny dusičné (3.3) a 5 minut vaří na pískové lázni nebo na topné desce tak, aby nedošlo k úplnému vysušení. Kapalina se převede do 500 ml odměrné baňky a kádinka se několikrát vymyje horkou vodou. Po ochlazení se doplní vodou po značku, homogenizuje a přefiltruje.

5.2 Vývoj zbarvení a měření absorpance

Alikvotní množství filtrátu připraveného podle bodu 5.1.1 nebo 5.1.2 se zředí tak, aby koncentrace fosforu byla maximálně 40 µg/ml. 10 ml tohoto roztoku se odpipetuje do zkumavky (4.6) a přidá se 10 ml molybdatovanadátového činidla (3.6). Homogenizuje se a nechá se stát minimálně po dobu 10 minut při teplotě 20 °C. Pak se měří absorpance ve spektrofotometru při 430 nm proti roztoku připravenému z 10 ml vody a 10 ml molybdatovanadátového činidla (3.6).

5.3 Kalibrační křivka

Ze standardního roztoku (3.7) se připraví roztoky, které obsahují 5, 10, 20, 30 a 40 µg fosforu na jeden ml. Ke každým 10 ml těchto roztoků se přidá 10 ml molybdatovanadátového činidla (3.6). Homogenizuje se a nechá se stát minimálně po dobu 10 minut při teplotě 20 °C. Pak se měří absorpance, jak je uvedeno v bodě 5.2. Kalibrační křivka se vytvoří vnesením hodnot absorpance proti odpovídajícím množstvím fosforu. Křivka je lineární při koncentraci fosforu 0–40 µg/ml.

6. Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah fosforu ve zkoušeném vzorku se stanoví pomocí kalibrační křivky.

Výsledek se vyjádří jako procento vzorku.

Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou paralelních stanovení provedených na stejném vzorku nesmí přesáhnout:

- 3 % relat. z hodnoty vyššího výsledku u vzorků s obsahem fosforu nižším než 5 %,
- 0,15 % v absolutní hodnotě u vzorků s obsahem fosforu 5 % a více.

Q. STANOVENÍ OBSAHU VE VODĚ ROZPUSTNÝCH CHLORIDŮ

1. Účel a rozsah

Tato metoda umožňuje stanovení obsahu ve vodě rozpustných chloridů obvykle vyjadřovaných jako chlorid sodný. Tato metoda je vhodná pro všechna krmiva.

2. Princip

Chloridy se rozpustí ve vodě. Jestliže produkt obsahuje organickou hmotu, roztok se vyčeří. Roztok se mírně okyslí kyselinou dusičnou a chloridy se vysrážejí pomocí roztoku dusičnanu stříbrného jako chlorid stříbrný. Přebytek dusičnanu stříbrného se titruje roztokem thiokyanatanu amonného podle Volhardovy metody.