

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.

3. Chemikálie

- 3.1 Roztok thiokyanatanu amonného 0,1 mol/l.
- 3.2 Roztok dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l.
- 3.3 Nasycený roztok síranu železitoamonného $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$.
- 3.4 Kyselina dusičná, hustota: 1,38 g/ml.
- 3.5 Diethylether.
- 3.6 Aceton.
- 3.7 Carrezovo činidlo I: ve vodě se rozpustí 21,9 g octanu zinečnatého $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 3 g ledové kyseliny octové. Doplní se vodou na 100 ml.
- 3.8 Carrezovo činidlo II: ve vodě se rozpustí 10,6 g kyanoželeznanu draselného (ferrokyanidu draselného) $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Doplní se vodou na 100 ml.
- 3.9 Aktivní uhlí, chloridů prosté a neabsorbující chloridy.

4. Přístroje a pomůcky

Míchací zařízení: přibližně 35–40 otáček/min.

5. Postup**5.1 Příprava roztoku**

Příprava vzorku závisí na druhu vzorku a roztok se připraví podle odstavce 5.1.1, 5.1.2 nebo 5.1.3.

Současně se provede *slepá zkouška* bez zkoušeného vzorku.

5.1.1 Vzorky bez organické hmoty

Do 500 ml odměrné baňky se naváží maximálně 10 g vzorku s přesností na 1 mg tak, aby navážka obsahovala nejvýše 3 g ve vodě rozpustných chloridů, přidá se asi 400 ml vody a třicet minut se míchá na míchacím zařízení při teplotě asi 20 °C. Potom se doplní po značku, homogenizuje a přefiltruje.

5.1.2 Vzorky obsahující organickou hmotu, kromě produktů uvedených v bodě 5.1.3

Do 500 ml odměrné baňky se naváží asi 5 g vzorku s přesností na 1 mg a 1 g aktivního uhlí. Přidá se 400 ml vody o teplotě přibližně 20 °C a 5 ml Carrezova činidla I (3.7), asi 30 sekund se míchá, pak se přidá 5 ml Carrezova činidla II (3.8). Třicet minut se míchá na míchacím zařízení, potom se doplní po značku, homogenizuje a přefiltruje.

5.1.3 Tepelně opracovaná krmiva, lněné pokrutiny, lněná moučka, směsi s jejich převážným obsahem a jiné produkty bohaté na rostlinný sliz nebo koloidní látky (např. dextrinovaný škrob)

Roztok se připraví podle bodu 5.1.2, ale nefiltruje se. Místo toho se dekantuje nebo v případě potřeby odstředí. Do 200 ml odměrné baňky se odpipetuje 100 ml supernatantu, smíchá se s acetonem (3.6) a doplní se tímto rozpouštědlem po značku. Homogenizuje se a přefiltruje.

5.2 Titrace

Do Erlenmayerovy baňky se odpipetuje 25–100 ml filtrátu (podle předpokládaného obsahu chlóru) získaného podle bodu 5.1.1, 5.1.2 nebo 5.1.3. Alikvotní část nesmí obsahovat více než 150 ml chlóru (Cl). V případě potřeby se doplní vodou na minimálně 50 ml, přidá se 5 ml kyseliny dusičné (3.4), 20 ml nasyceného roztoku síranu železitoamonného (3.3) a dvě kapky roztoku thiokyanatanu amonného (3.1) z byrety naplněné ke značce nula. Jinou byretou se přidá roztok dusičnanu stříbrného (3.2) tak, aby se získal přebytek 5 ml. Dále se přidá 5 ml diethyletheru (3.5) a silně se protřepe, aby sraženina dobře koagulovala. Přebytek dusičnanu stříbrného se titruje s roztokem thiokyanatanu amonného (3.1), dokud není dosaženo červenohnědého zbarvení, které vydrží jednu minutu.

6. Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah ve vodě rozpustných chloridů (X) vyjádřených jako procento chloridu sodného se vypočítá podle následujícího vzorce:

$$X = \frac{5,845 \times (V_1 - V_2)}{m}$$

kde:

V_1 = přidáný roztok dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l v ml

V_2 = roztok thiokyanatanu amonného 0,1 mol/l použitý pro titraci v ml

m = hmotnost vzorku

Jestliže byl při slepé zkoušce roztok dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l spotřebován, odečte se tato hodnota z objemu ($V_1 - V_2$).

7. Poznámky

7.1 Titraci lze provádět také potenciometricky.

7.2 V případě produktů velmi bohatých na oleje a tuky se vzorek nejprve odtuční diethyletherem nebo petroletherem.

7.3 V případě rybích mouček lze titraci provést Mohrovou metodou.
