	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10160.1 – Stanovení obsahu vápníku manganometricky	Revize	3

STANOVENÍ OBSAHU VÁPŇÍKU MANGANOMETRICKY

1 Rozsah a účel

Tato metoda specifikuje podmínky pro stanovení celkového obsahu vápníku v krmivech, krmných směsích a premixech.

Metoda umožňuje stanovení vápníku ve všech druzích krmiv od obsahu 0,05 %.


2 Princip

Vápník se stanoví z chloridového výluhu popele vzorku, nebo u minerálních krmiv po rozpuštění vzorku v kyselině chlorovodíkové, vysrážením šťavelanem amonným z amoniakálního prostředí a po izolaci šťavelanu vápenatého a okyselení titračně manganometricky.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.


- Kyselina chlorovodíková, HCl, koncentrovaná, 35%, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.
- Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 800 ml vody (18) v 1000ml odměrné baňce se přidá 88 ml HCl (1) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 3 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 600 ml vody (18) v 1000ml odměrné baňce se přidá 265 ml HCl (1) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 400 ml vody (18) v 1000ml odměrné baňce se přidá 530 ml HCl (1) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/ml}$.
- Kyselina sírová, H_2SO_4 , roztok $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 700 ml vody (18) v 1000ml odměrné baňce se přidá 204,3 g 96% H_2SO_4 a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- Amoniak, roztok 5%, $\rho = 0,91 \text{ g/ml}$.
Příprava: 192 ml 26% NH_4OH se smíchá s 808 ml vody (18).
- Šťavelan amonný, $(\text{NH}_4)_2(\text{COO})_2$, roztok, $c((\text{NH}_4)_2(\text{COO})_2) = 10 \text{ g/l}$.
Příprava: 10 g šťavelanu amonného se rozpustí ve vodě (18) v 1000ml odměrné baňce a doplní do 1 litru.

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10160.1 – Stanovení obsahu vápníku manganometricky	Vydání	1
		Revize	3

- 9 Šťavelan amonný, nasycený roztok při 20 °C.
- 10 Kyselina citrónová, C₆H₈O₇, roztok, c (C₆H₈O₇) = 300 g/l.
Příprava: 300 g kyseliny citrónové se rozpustí ve vodě (18) v 1000ml odměrné baňce a doplní do 1 litru.
- 11 Chlorid amonný, NH₄Cl, roztok, c(NH₄Cl) = 50 g/l.
Příprava: 50 g chloridu amonného se rozpustí ve vodě (18) v 1000ml odměrné baňce a doplní do 1 litru.
- 12 Manganistan draselný, KMnO₄, odměrný roztok c(KMnO₄) = 0,02 mol/l.
Příprava: 3,16 g KMnO₄ se naváží do 1000ml odměrné baňky, přidá se asi 100 ml vody (18), zahřeje k varu a po ochlazení doplní po značku. Po 24 h se roztok opatrně přelije do zásobní lahve z tmavého skla tak, aby vyloučený oxid manganický zůstal v původní lahvi.
- 13 Uhličitan draselný, K₂CO₃, pevný.
- 14 Uhličitan sodný, Na₂CO₃, pevný.
- 15 Aktivní uhlí.
- 16 Indikátor bromkrezolová zeleň, ethanolický roztok, c = 0,4 g/l.
Příprava: 0,4 g bromkrezolové zeleně se rozpustí v ethanolu (19) a doplní do 1 litru.
- 17 Indikátor kongočerveně, 0,1% roztok.
Příprava: 0,1 g kongočerveně se rozpustí v 10 ml ethanolu (19) a doplní do 100 ml vodou (18).
- 18 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 19 Ethanol, C₂H₅OH.
- 20 Šťavelan sodný, Na₂(COO)₂.
- 21 Kyselina sírová, H₂SO₄, roztok, c(H₂SO₄) = 20 %.
Příprava: K 790 ml vody (18) v 1000ml odměrné baňce se přidá 210 g 96% H₂SO₄.

Poznámky

- 1 *Nepřítomnost stanovovaného prvku musí být ověřena slepým pokusem. Pokud je třeba, musejí být použité chemikálie přečištěny.*
- 2 *Stanovení faktoru odměrného roztoku c(KMnO₄) = 0,02mol/l:*
Do tří 250ml kuželových baněk se naváží přesně (0,05 – 0,065) g šťavelanu sodného (20), rozpustí se v 50 ml vody (18), přidá se 8 ml 20% H₂SO₄ (21), za stálého míchání se přidá z byrety 90 % teoretické spotřeby roztoku manganistanu a ponechá se stát do odbarvení roztoku. Pak se zahřeje na (70 – 80) °C a dotitruje po kapkách do růžového zbarvení, které je stále 1 min. Teplota se udržuje, na konci titrace nesmí být nižší než 60 °C.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10160.1 – Stanovení obsahu vápníku manganometricky	Vydání	1
		Revize	3

Výpočet faktoru:

$$f = \frac{1000 \times n}{6,7 \times V}$$

V spotřeba odměrného roztoku manganistanu draselného v ml,

n hmotnost navážky šťavelanu sodného v g,

1 ml přesně 0,02 mol/l $KMnO_4$ odpovídá 6,7 mg šťavelanu sodného $Na_2C_2O_4$.

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Vodní lázeň s regulovatelnou teplotou.
- 2 Skleněný kelímek s filtrační vložkou o porozitě S₃ nebo S₄.
- 3 Zařízení pro filtraci za sníženého tlaku.
- 4 Spalovací kelímek nebo miska (porcelánová, křemenná, platinová).
- 5 Muflová pec s automatickou regulací teploty pro rozsahy teplot do 650 °C.
- 6 Elektrický vaříč, topná deska nebo kahan.
- 7 Laboratorní sklo – kádinky, odměrné baňky, pipety, byrety.
- 8 Filtrační papír.
- 9 Laboratorní váha o přesnosti nejméně 0,001 g.


5 Postup zkoušky

5.1 Mineralizace vzorku

Krmiva

Do spalovací misky se podle předpokládaného obsahu prvků odváží asi 1 g až 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně na 0,001 g, miska se vloží do studené muflové pece a po dosažení teploty (550 ± 20) °C se spaluje po dobu 5 h.

Po uplynutí této doby se miska vyjme, nechá volně vychladnout a spálený vzorek se vizuálně posoudí na přítomnost uhlíkatých částic. Jsou-li ještě přítomny, spaluje se za výše uvedených podmínek ještě 1 h. Po ochlazení se popel mírně zvlhčí vodou (18) a pomocí kyseliny chlorovodíkové (3) se kvantitativně převede do 250 ml kádinky. Celkové množství roztoku kyseliny chlorovodíkové nemá být vyšší než 75 ml. Potom se kádinka přikryje krycím sklíčkem, obsah se uvede do varu a vaří se asi 15 min. Obsah kádinky se ještě za horka filtruje přes středně hustý filtr do 250ml odměrné baňky, promývá horkou vodou (18), vytemperuje, doplní vodou (18) po značku a promíchá (zásobní roztok). Podle očekávaného obsahu jednotlivých prvků se tento výluh měří buď přímo, nebo po potřebném nařazení kyselinou chlorovodíkovou (2).

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10160.1 – Stanovení obsahu vápníku manganometricky	Vydání	1
		Revize	3

Poznámky

- 3 *Tento postup se používá, pokud vzorek obsahuje organickou hmotu.*
- 4 *Pokud jsou na filtru přítomny uhlikaté částice, filtr se znovu spaluje ve stejné misce v muflové peci ještě 2 h při (550 ± 20) °C. Z popele se připraví již uvedeným postupem mineralizát, který se spojí se zásobním roztokem a po vychladnutí doplní vodou (18) po značku.*

Minerální premixy

Do 250ml kádinky se naváží 1 g až 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně na 0,001 g, přidá se pomalu a opatrně (možný vývoj kysličníku uhličitého) 2 × 50 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové (4) a dále se postupuje stejně jako u vzorků krmiv.


Poznámky

- 5 *Tento postup se používá, pokud vzorek neobsahuje téměř žádnou nebo žádnou organickou hmotu.*
- 6 *V případě analýzy minerálních krmiv, jakými jsou například hlinitovápennaté fosfáty, které nejsou snadno rozpustné v kyselině chlorovodíkové, se postupuje takto: navážka vzorku se smíchá v platinovém kelímku s pětinasobným množstvím směsi uhličitanu sodného (14) a draselného (13) v poměru (1 : 1) a opatrně se zahřívá na kahanu, až se směs roztaví. Po krátkém tavení se tavenina nechá vychladnout a opatrně se rozpustí v roztoku kyseliny chlorovodíkové (3) a dále se postupuje stejně jako u vzorků krmiv.*
- 7 *U zbarvených roztoků se přidává před filtrací k částečně vychladlému mineralizátu aktivní uhlí (15), jehož množství se volí podle intenzity zbarvení roztoku.*
- 8 *Slepý pokus: Pro každou měřenou sérii se připraví slepý pokus (roztok) tak, že se provedou stejné operace s vyloučením zkušební vzorku.*

5.2 Stanovení vápníku manganometricky

Do 250ml kádinky se odpipetuje alikvotní podíl zásobního roztoku, obsahující podle předpokládaného obsahu asi 10 mg až 40 mg vápníku, přidá se 1 ml roztoku kyseliny citrónové (10), 5 ml roztoku chloridu amonného (11), obsah kádinky se zředí vodou (18) přibližně na 100 ml, kádinka se přiklopí hodinovým sklíčkem a obsah se zahřeje k varu. Pak se přidá asi 8 až 10 kapek roztoku indikátoru bromkrezolové zeleně (16) a 30 ml horkého nasyceného roztoku šťavelanu amonného (9). Vznikne-li sraženina, rozpustí se několika kapkami kyseliny chlorovodíkové (1) a obsah kádinky se pomalu za neustálého míchání neutralizuje roztokem amoniaku (7) do právě vzniklé změny zbarvení indikátoru (pH 4,4 až pH 4,6) a vzniku sraženiny šťavelanu vápenatého. Kádinka se umístí na vroucí vodní lázeň na dobu 30 min a pak se ještě 1 h nechá stát při laboratorní teplotě.

Obsah se filtruje za sníženého tlaku přes filtrační kelímek tak, že se nejprve slévá roztok nad usazenou sraženinou, sraženina se promývá dekantací roztokem šťavelanu amonného (8) a nakonec se převede na filtr i sraženina. Ta se důkladně promyje vodou (18) do negativní

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10160.1 – Stanovení obsahu vápníku manganometricky	Vydání	1
		Revize	3

reakce dalšího filtrátu na šťavelany či chloridy a přímo na filtru se rozpustí v 50 ml horkého roztoku kyseliny sírové (6) do titrační baňky či kádinky, kelímek se promyje horkou vodou (18) jímanou do stejné baňky (kádinky) a nakonec se obsah baňky (kádinky) upraví vodou (18) asi na 100 ml. Pak se obsah baňky (kádinky) zahřeje na 70 °C až 80 °C a ihned titruje po kapkách odměrných roztokem manganistanu draselného (12) do právě vzniklého růžového zabarvení roztoku, které setrvá alespoň 1 min.

Poznámky

9 *Přítomnost chloridů se vyloučí, jestliže se filtrát po přidání několika kapek 0,1% ethanolickeho roztoku kongočerveně (17) již nezbarví modře.*

6 Výpočet a vyjádření výsledku

Obsah vápníku v % (X) se vypočítá podle vztahu

$$X = \frac{2,004 \times V \times f}{10 \times m}$$

kde

V spotřeba odměrného roztoku KMnO₄ v ml,

m hmotnost alikvotního podílu navážky zkušební vzorku v g,

f faktor odměrného roztoku KMnO₄.

1 ml přesně 0,02 mol/l manganistanu draselného odpovídá 2,004 mg Ca.

Přepočty: % CaO = % Ca × 1,3992

% CaCO₃ = % Ca × 2,4972

7 Literatura

1 ISO 6490/1 – Krmiva – Stanovení obsahu vápníku – Část 1: Titrační metoda.