

31971L0393

L 279/7

JURNALUL OFICIAL AL COMUNITĂȚILOR EUROPENE

20.12.1971

**A DOUA DIRECTIVĂ A COMISIEI
din 18 noiembrie 1971
de stabilire a metodelor comunitare de analiză pentru controlul oficial al furajelor**

(71/393/CEE)

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Economice Europene,

având în vedere Directiva Consiliului din 20 iulie 1970 privind introducerea modalităților de prelevare a probelor și a metodelor comunitare de analiză pentru controlul oficial al furajelor ⁽¹⁾, în special articolul 2,

întrucât directiva menționată prevede efectuarea controalelor oficiale ale furajelor, prin care să se constate dacă se respectă condițiile impuse în temeiul actelor cu putere de lege și al actelor administrative în materie de calitate și compoziție a furajelor, în conformitate cu modalitățile de prelevare a probelor și cu metodele comunitare de analiză;

întrucât Directiva 71/250/CEE a Comisiei din 15 iunie 1971 ⁽²⁾ a stabilit deja un anumit număr de metode comunitare de analiză; întrucât, ținând cont de stadiul de avansare a lucrărilor efectuate încă de la acea dată, este necesar să se adopte o a doua serie de metode;

întrucât măsurile prevăzute în prezenta directivă sunt conforme cu avizul Comitetului permanent pentru furaje,

ADOPTĂ PREZENTA DIRECTIVĂ:

Articolul 1

Statele membre dispun ca analizele pentru controalele oficiale ale furajelor, cu privire la conținutul de umiditate, baze azotate

volatile, fosfor total și substanțe grase brute, să se efectueze în conformitate cu metodele descrise în anexa la prezenta directivă.

Dispozițiile generale prezentate în partea I (introducere) a anexei la prima Directivă 71/250/CEE a Comisiei din 15 iunie 1971 de stabilire a metodelor comunitare de analiză pentru controlul oficial al furajelor se aplică în cazul metodelor descrise în anexa la prezenta directivă.

Articolul 2

Statele membre pun în aplicare actele cu putere de lege și actele administrative necesare pentru a se conforma prezentei directive până la 1 ianuarie 1973. Statele membre informează de îndată Comisia cu privire la aceasta.

Articolul 3

Prezenta directivă se adresează statelor membre.

Adoptată la Bruxelles, 18 noiembrie 1971.

Pentru Comisie

Președintele

Franco M. MALFATTI

⁽¹⁾ JO L 170, 3.8.1970, p. 2.

⁽²⁾ JO L 155, 12.7.1971, p. 13.

ANEXĂ

I. DOZAREA UMIDITĂȚII

1. **Obiect și domeniu de aplicare**

Metoda permite determinarea conținutului de umiditate al furajelor. Metoda nu se referă la analiza produselor lactate în calitate de simple furaje, la analiza substanțelor minerale și a amestecurilor compuse în mod esențial din substanțe minerale, precum și la analiza semințelor și a fructelor oleaginoase definite în Regulamentul nr. 136/66/CEE al Consiliului din 22 septembrie 1966 de instituire a unei organizări comune a piețelor în sectorul substanțelor grase ⁽¹⁾.

Determinarea conținutului de umiditate al semințelor și al fructelor oleaginoase face obiectul anexei III la Regulamentul (CEE) nr. 1470/68 al Comisiei din 23 septembrie 1968 privind prelevarea și transformarea probelor, precum și determinarea conținutului de ulei, de impurități și de umiditate al semințelor oleaginoase ⁽²⁾.

2. **Principiu**

Proba de analiză este supusă uscării în condiții definite care variază în funcție de natura furajelor. Pierderea de masă se determină prin cântărire. Este necesar să se efectueze o uscare prealabilă atunci când este vorba de furaje solide cu un conținut ridicat de umiditate.

3. **Aparatura**

- 3.1. Moară construită dintr-un material care nu absoarbe umiditatea, ușor de curățat, permițând o măcinare rapidă și uniformă fără a provoca o încălzire semnificativă, evitând la maximum contactul cu aerul exterior și corespunzând cerințelor indicate la punctele 4.1.1 și 4.1.2 (de exemplu, micromoară cu ciocane sau cu răcire cu apă, mori conice demontabile, mori cu mecanism lent sau cu discuri dințate).
- 3.2. Balanță analitică, precizie 0,5 mg.
- 3.3. Vase uscate din metal inoxidabil sau din sticlă, prevăzute cu un capac ce asigură o închidere etanșă față de aerul exterior; suprafață utilă permițând obținerea unei distribuiri a probei de analiză de ordinul a 0,3 g/cm².
- 3.4. Etuvă izotermă (± 1 °C) cu încălzire electrică, asigurând o reglare rapidă a temperaturii și fiind ventilată corespunzător ⁽³⁾.
- 3.5. Etuvă cu vid, cu încălzire electrică reglabilă, prevăzută cu o pompă de ulei și cu un dispozitiv de introducere a aerului cald deshidratat sau cu un agent de deshidratare (de exemplu, oxid de calciu).
- 3.6. Exsicator cu placă din metal sau porțelan, grosă, perforată, conținând un agent de deshidratare eficient.

4. **Mod de lucru**

NB: Operațiile descrise în acest capitol se efectuează imediat după deschiderea ambalajelor care conțin probele. Analizele trebuie să fie efectuate cel puțin în duplicat.

⁽¹⁾ JO 172, 30.9.1966, p. 3025/66.

⁽²⁾ JO L 239, 28.9.1968, p. 2.

⁽³⁾ Pentru uscarea cerealelor, precum și a crupelor, a sortimentelor de făină și griș, etuva trebuie să aibă o astfel de capacitate calorică, încât, reglată fiind în prealabil la o temperatură de 131 °C, să poată atinge din nou această temperatură în mai puțin de 45 de minute după introducerea numărului maxim de probe de analiză în vederea uscării simultane. Etuva ar trebui să dispună de o astfel de ventilație, încât, la uscarea timp de două ore a tuturor probelor de analiză de grâu moale pe care le poate cuprinde, rezultatele să prezinte o diferență mai mică de 0,15 % în comparație cu rezultatele obținute după patru ore de uscare.

4.1. Preparare

4.1.1. Alte furaje decât cele menționate la punctele 4.1.2 și 4.1.3

Se prelevează cel puțin 50 g de probe. Dacă este necesar, se macină ori se mărunțește în mod corespunzător, pentru a evita orice variație de umiditate a conținutului (vezi punctul 6).

4.1.2. Cereale și crupe

Se prelevează cel puțin 50 g de probă. Se macină în particule, astfel încât cel puțin 50 % să treacă printr-o sită cu ochiuri de 0,5 mm și să nu rămână mai mult de 10 % refuz pe sita cu ochiuri rotunde de 1 mm.

4.1.3. Furaje lichide sau păstoase, furaje constituite în mod esențial din substanțe grase

Se prelevează și se cântăresc, cu o precizie de 10 mg, în jur de 25 g de probe, se adaugă o cantitate corespunzătoare de nisip anhidru, cântărit cu o precizie de 10 mg, și se amestecă până la obținerea unui produs omogen.

4.2. Uscare

4.2.1. Alte furaje decât cele menționate la punctele 4.2.2 și 4.2.3

Se stabilește tara, cu o precizie de 0,5 mg, pentru un vas (3.3) prevăzut cu capac. Se cântăresc în vasul tarat, cu o precizie de 1 mg, în jur de 5 g de probă și se distribuie uniform proba de analiză. Se introduce vasul în etuva încălzită în prealabil la 103 °C, capacul fiind scos. Pentru a evita ca temperatura etuvei să coboare prea mult, timpul de introducere a vasului este minim. Se lasă la uscat timp de patru ore, începând din momentul în care etuva a atins din nou temperatura de 103 °C. Se fixează capacul pe vas, se scoate vasul din etuvă, se lasă la răcit timp de 30 până la 45 de minute în exsicator (3.6) și se cântărește cu o precizie de 1 mg.

În cazul furajelor constituite în mod esențial din substanțe grase, se efectuează o uscare suplimentară de 30 de minute în etuva aflată la 103 °C. Diferența dintre cele două cântăriri nu trebuie să depășească 0,1 % umiditate.

4.2.2. Cereale, crupe, sortimente de făină și griș

Se stabilește tara, cu o precizie de 0,5 mg, pentru un vas (3.3) prevăzut cu capac. Se cântăresc în vasul tarat, cu o precizie de 1 mg, în jur de 5 g de probă măcinată și se distribuie uniform proba de analiză. Se introduce vasul în etuva încălzită în prealabil la 130 °C, capacul fiind scos. Pentru a evita ca temperatura etuvei să coboare prea mult, timpul de introducere a vasului este minim. Se lasă la uscat timp de două ore, începând din momentul în care etuva a atins din nou temperatura de 130 °C. Se fixează capacul pe vas, se scoate vasul din etuvă, se lasă la răcit timp de 30 până la 45 de minute în exsicator (3.6) și se cântărește cu o precizie de 1 mg.

4.2.3. Furaje compuse conținând peste 4 % zaharoză sau lactoză; furaje simple precum roșcovele, produsele cerealiere hidrolizate, germeii de malț, tăiței de sfeclă, peștele solubilizat și zaharurile; furaje compuse conținând peste 25 % săruri minerale care înglobează apă de cristalizare

Se stabilește tara, cu o precizie de 0,5 mg, pentru un vas (3.3) prevăzut cu capac. Se cântăresc în vasul tarat, cu o precizie de 1 mg, în jur de 5 g de probă și se distribuie uniform proba de analiză. Se introduce vasul în etuva cu vid (3.5) încălzită în prealabil la o temperatură între 80 și 85 °C,

capacul fiind scos. Pentru a evita ca temperatura etuvei să coboare prea mult, timpul de introducere a vasului este minim.

Se reduce presiunea la 100 torr și se lasă la uscat la această presiune timp de patru ore, fie sub un curent de aer uscat și cald, fie cu ajutorul unui agent de deshidratare (în jur de 300 g pentru 20 de probe). În acest ultim caz, se întrerupe legătura la pompa de vid atunci când este atinsă presiunea prescrisă. Durata de uscare se consideră din momentul în care etuva a atins din nou o temperatură între 80 și 85 °C. Se readuce apoi etuva, cu precauție, la presiunea atmosferică. Se deschide etuva, se acoperă imediat vasul cu capacul prevăzut, se scoate vasul din etuvă, se lasă la răcit timp de 30 până la 45 de minute în exicator (3.6) și se cântărește cu o precizie de 1 mg. Se efectuează o uscare suplimentară de 30 de minute în etuva cu vid la o temperatură între 80 și 85 °C și se cântărește din nou. Diferența dintre cele două cântăriri nu trebuie să depășească 0,1 % umiditate.

4.3. Uscarea prealabilă

4.3.1. Alte furaje decât cele menționate la punctul 4.3.2

Furajele solide al căror conținut de umiditate este ridicat și face dificilă măcinarea trebuie să fie uscate în prealabil, după cum urmează:

Se cântăresc, cu o precizie de 10 mg, 50 g de probă *nemăcinată* (o mărunțire grosieră poate fi efectuată, dacă este necesar, în cazul furajelor comprimate sau aglomerate) într-un vas corespunzător (de exemplu o placă de aluminiu de 20 x 12 cm cu bordură de 0,5 cm). Se lasă la uscat într-o etuvă la o temperatură cuprinsă între 60 și 70 °C, până ce conținutul de umiditate coboară la o valoare cuprinsă între 8 și 12 %. Se scoate vasul din etuvă, se lasă la răcit în laborator, fără capac, timp de o oră și se cântărește cu o precizie de 10 mg. Se macină imediat conform indicațiilor de la punctul 4.1.1 și se efectuează uscarea conform indicațiilor de la punctul 4.2.1 sau 4.2.3, în funcție de natura furajelor.

4.3.2. Cereale

Grăunțele cu un conținut de umiditate mai mare de 17 % trebuie să fie uscate în prealabil după cum urmează:

Se cântăresc, cu o precizie de 10 mg, 50 g de grăunțe *nemăcinate* într-un vas corespunzător (de exemplu o placă de aluminiu de 20 x 12 cm cu bordură de 0,5 cm). Se lasă la uscat într-o etuvă timp de 5 până la 7 minute la temperatura de 130 °C. Se scoate vasul din etuvă, se lasă la răcit în laborator, fără capac, timp de două ore și se cântărește cu o precizie de 10 mg. Se macină imediat conform indicațiilor de la punctul 4.1.2 și se efectuează uscarea conform indicațiilor de la punctul 4.2.2.

5. Calcularea rezultatelor

Conținutul de umiditate al probei, în procente, este dat de următoarele formule:

5.1. Uscare, fără uscare prealabilă

$$(E - m) \cdot \frac{100}{E}$$

unde:

E = masa inițială, în grame, a probei de analiză,

m = masa, în grame, a probei de analiză uscate.

5.2. Uscare, cu uscare prealabilă

$$\left[\frac{(M' - m) M}{M'} + E - M \right] \cdot \frac{100}{E} = 100 \left(1 - \frac{Mm}{EM'} \right)$$

unde:

E = masa inițială, în grame, a probei de analiză,

M = masa, în grame, a probei de analiză după uscarea prealabilă,

M' = masa, în grame, a probei de analiză după triturare sau măcinare,

m = masa, în grame, a probei de analiză uscate.

5.3. Repetabilitate

Diferența dintre rezultatele obținute în două determinări paralele efectuate pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,2 % umiditate.

6. Observație

Dacă măcinarea se dovedește necesară și dacă rezultă că aceasta antrenează o variație a conținutului de umiditate al produsului, rezultatele analizei referitoare la componentele furajelor trebuie convertite în conformitate cu conținutul de umiditate al probei inițiale.

II. DOZAREA BAZELOR AZOTATE VOLATILE

A. PRIN MICRODIFUZIE

1. Obiect și domeniu de aplicare

Metoda permite să se determine conținutul de baze azotate volatile, exprimate în amoniac, pentru furaje.

2. Principiu

Proba este supusă extracției cu apă, soluția este limpezită și filtrată. Bazele azotate volatile sunt transferate prin microdifuzie cu ajutorul unei soluții de carbonat de potasiu, colectate într-o soluție de acid boric și titrate cu acid sulfuric.

3. Reactivi

3.1. Soluție de acid tricloracetic 20 % (p/v).

3.2. Indicator: se dizolvă 33 mg de verde de bromocresol și 65 mg de roșu de metil în 100 ml alcool etilic 95-96 % (v/v).

3.3. Soluție de acid boric: într-un balon gradat de 1 l se dizolvă 10 g de acid boric pentru analiză în 200 ml alcool etilic 95-96 % (v/v) și 700 ml apă. Se adaugă 10 ml de indicator (3.2). Se amestecă și dacă este necesar se ajustează colorația soluției la roșu deschis prin adăugarea unei soluții de hidroxid de sodiu. 1 ml din această soluție permite fixarea a cel mult 300 μg de NH₃.

3.4. Soluție saturată de carbonat de potasiu: se dizolvă 100 g de carbonat de potasiu pentru analiză în 100 ml de apă adusă la fierbere. Se lasă la răcit și se filtrează.

3.5. Acid sulfuric 0,02 N.

4. Aparatură

4.1. Agitator (basculator): în jur de 35 până la 40 basculări pe minut.

4.2. Celule Conway (v. schița), din sticlă sau din material plastic.

4.3. Microbiurete, gradate la 1/100 ml.

5. Modalitatea de operare

Se cântăresc, cu precizie de 1 mg, 10 g de probă și se introduc într-un balon cotate de 200 ml cu 100 ml de apă. Se amestecă timp de 30 de minute în basculator. Se adaugă 50 ml de soluție de acid tricloracetic (3.1), se completează volumul cu apă, se agită cu putere și se filtrează pe un filtru cutat.

Se introduce cu pipeta, în partea centrală a celulei Conway, 1 ml de soluție de acid boric (3.3), iar în coroana celulei 1 ml de filtrat de probă. Se acoperă parțial cu ajutorul unui capac lubrifiat. Se lasă să cadă rapid în coroană 1 ml de soluție saturată de carbonat de potasiu (3.4) și se închide capacul în mod etanș. Se agită cu precauție celula, imprimându-i o mișcare de rotație în plan orizontal, pentru a asigura amestecarea celor doi reactivi. Se lasă la incubat fie timp de cel puțin patru ore la temperatura ambiantă, fie timp de o oră la 40 °C.

Se titrează bazele volatile din soluția de acid boric cu acid sulfuric 0,02 N (3.5), utilizând o microbiuretă (4.3).

Se efectuează o analiză martor, aplicând același mod de lucru, în absența probei de analizat.

6. Calcularea rezultatelor

1 ml de H_2SO_4 0,02 N corespunde la 0,34 mg de amoniac.

Se exprimă rezultatul în procente din probă.

Repetabilitate

Diferența dintre rezultatele obținute în două determinări paralele efectuate pe o aceeași probă nu trebuie să depășească:

10 % în valoare relativă pentru conținuturi de amoniac mai mici de 1,0 %;

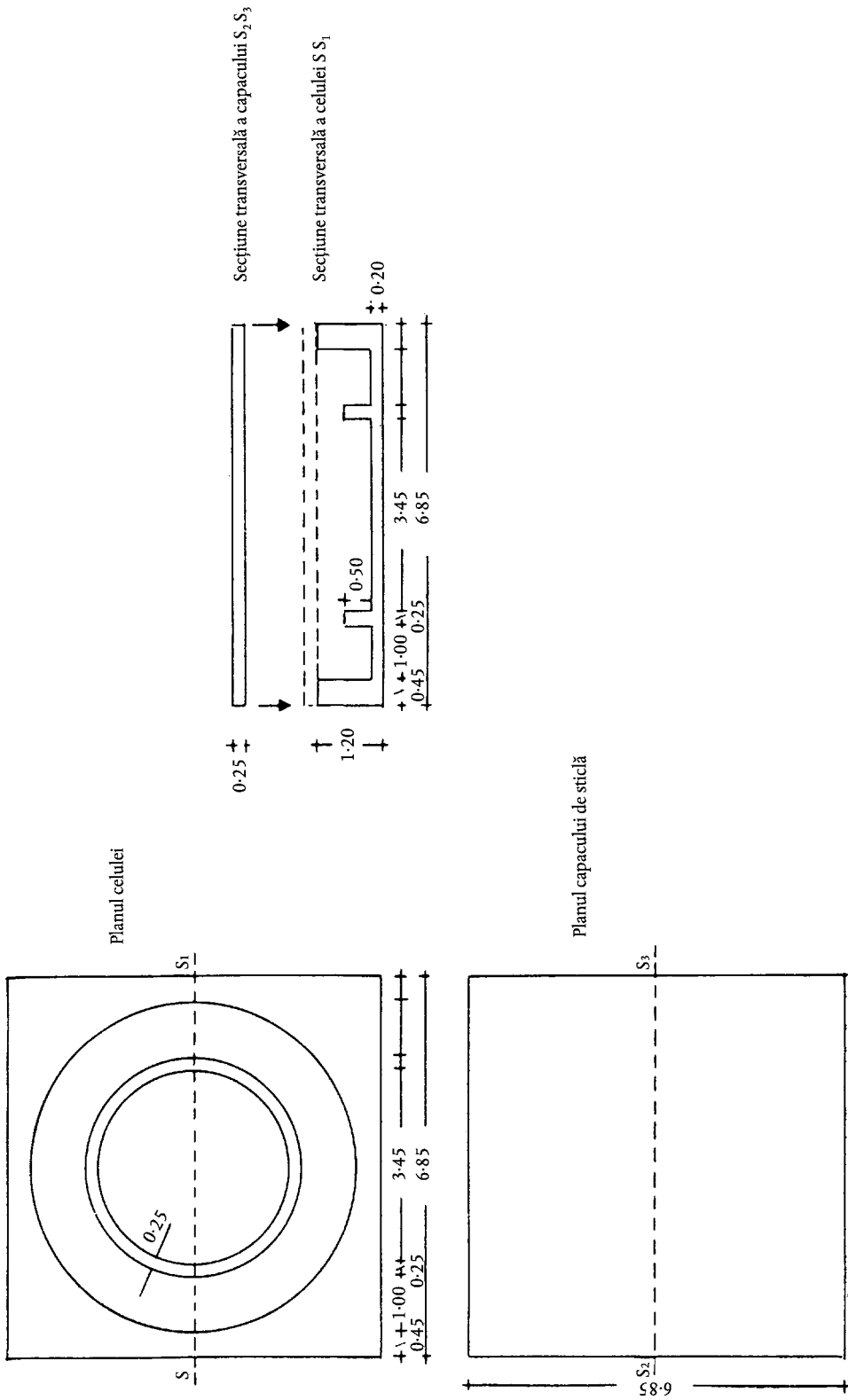
0,1 % în valoare absolută pentru conținuturi de amoniac egale sau mai mari de 1,0 %.

7. Observație

În cazul unui conținut de amoniac al probei mai mare de 0,6 % se diluează filtratul inițial.

CELULA CONWAY

Scara 1/1



B. PRIN DISTILARE

1. **Obiect și domeniu de aplicare**

Metoda permite determinarea conținutului de baze azotate volatile, exprimate în amoniac, a sortimentelor de făină de pește care nu conțin deloc uree. Metoda este aplicabilă doar pentru conținuturi de amoniac mai mici de 0,25 %.

2. **Principiu**

Proba este supusă extracției cu apă, soluția este limpezită și filtrată. Bazele azotate volatile sunt transferate la fierbere prin adăugare de oxid de magneziu și colectate într-o cantitate determinată de acid sulfuric, al cărui exces este titrat în retur, utilizând o soluție de hidroxid de sodiu.

3. **Reactivi**

- 3.1. Soluție de acid tricloracetic 20 % (p/v).
- 3.2. Oxid de magneziu pentru analiză.
- 3.3. Emulsie de antispumant (de exemplu silicon).
- 3.4. Acid sulfuric 0,1 N.
- 3.5. Soluție de hidroxid de sodiu 0,1 N.
- 3.6. Soluție de roșu de metil 0,3 % (p/v) în alcool etilic 95-96 % (v/v).

4. **Aparatură**

- 4.1. Agitator (basculator): în jur de 35 până la 40 de basculări pe minut.
- 4.2. Aparat de distilat de tip Kjeldahl.

5. **Mod de lucru**

Se cântăresc, cu precizie de 1 mg, 10 g de probă și se introduc împreună cu 100 ml de apă într-un balon gradat de 200 ml. Se amestecă timp de 30 de minute în basculator. Se adaugă 50 ml de soluție de acid tricloracetic (3.1), se completează volumul cu apă, se agită cu putere și se filtrează pe un filtru cutat.

Se prelevează o cantitate de filtrat limpede, în funcție de conținutul de baze azotate volatile presupus (100 ml sunt suficiente, în general). Se diluează la 200 ml și se adaugă 2 g de oxid de magneziu (3.2), precum și câteva picături de emulsie antispumantă (3.3). Soluția trebuie să fie alcalină la testul cu hârtie de turnesol; dacă soluția nu este alcalină, se adaugă oxid de magneziu (3.2). Se distilează circa 150 ml de soluție într-un aparat de tip Kjeldahl și se colectează distilatul într-un pahar Erlenmeyer care conține un volum de acid sulfuric 0,1 N (3.4) măsurat cu exactitate (între 25 și 50 ml). Pe parcursul distilării se evită supraîncălzirea pereților. Soluția sulfurică se fierbe timp de 2 minute, apoi se răcește și se titrează excesul de acid sulfuric în retur, utilizând o soluție de hidroxid de sodiu 0,1 N (3.5) în prezența indicatorului roșu de metil (3.6).

Se efectuează o analiză martor, aplicând același mod de lucru, în absența probei de analiză.

6. **Calcularea rezultatelor**

1 ml de H_2SO_4 0,1 N corespunde la 1,7 mg de amoniac.

Se exprimă rezultatul în procente din probă.

Repetabilitate

Diferența dintre rezultatele obținute în două determinări paralele efectuate pe aceeași probă nu trebuie să depășească 10 %, în valoare relativă, în ceea ce privește conținutul de amoniac.

III. DOZAREA FOSFORULUI TOTAL**METODĂ FOTOMETRICĂ****1. Obiect și domeniu de aplicare**

Metoda permite determinarea conținutului de fosfor total al furajelor. Metoda este indicată în special pentru analiza produselor sărace în fosfor. În anumite cazuri (produse bogate în fosfor), se poate aplica o metodă gravimetrică.

2. Principiu

Proba se mineralizează, fie pe cale uscată (pentru furajele organice), fie pe cale umedă (pentru compușii minerali și furajele lichide), iar apoi este trecută în soluție acidă. Soluția se tratează cu reactivul vanado-molibdenic. Densitatea optică a soluției galbene astfel formate se măsoară cu un spectrofotometru la 430 nm.

3. Reactivi

- 3.1. Carbonat de calciu pentru analiză.
- 3.2. Acid clorhidric pentru analiză, d: 1,1 (aproximativ 6 N).
- 3.3. Acid azotic pentru analiză, d: 1,045.
- 3.4. Acid azotic pentru analiză, d: între 1,38 și 1,42.
- 3.5. Acid sulfuric pentru analiză, d: 1,84.
- 3.6. Reactiv vanado-molibdenic: Se amestecă 200 ml de soluție de heptamolibdat de amoniu (3.6.1), 200 ml de soluție de monovanadat de amoniu (3.6.2) și 134 ml de acid azotic (3.4) într-un balon gradat de 1 l. Volumul se completează cu apă.
 - 3.6.1. Soluție de heptamolibdat de amoniu: se dizolvă în apă caldă 100 g de heptamolibdat de amoniu pentru analiză
 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Se adaugă 10 ml de amoniac (d: 0,91) și se completează până la 1 l cu apă.
 - 3.6.2. Soluție de monovanadat de amoniu: se dizolvă în 400 ml de apă caldă 2,35 g de monovanadat de amoniu pentru analiză NH_4VO_3 . Se adaugă lent și agitând tot timpul 20 ml de acid azotic diluat [7 ml de HNO_3 (3.4)] + 13 ml de H_2O și se completează până la 1 l cu apă.
- 3.7. Soluție-etalon care conține 1 mg de fosfor la 1 ml: se dizolvă în apă 4,387 g de ortofosfat monobazic de potasiu pentru analiză KH_2PO_4 . Se completează până la 1 l cu apă.

4. Aparatură

- 4.1. Creuzete de incinerare, din cuarț sau porțelan.
- 4.2. Cuptor cu muflă, electric, prevăzut cu un termostat reglat la 550 °C.
- 4.3. Balon Kjeldahl de 250 ml.
- 4.4. Baloane gradate și pipete de precizie.
- 4.5. Spectrofotometru.
- 4.6. Eprubete cu diametru de aproximativ 16 mm, cu rodaj standardizat de 14,5 mm și capacitate cuprinsă între 25 și 30 ml.

5. Mod de lucru**5.1. Prepararea soluției**

În funcție de natura probei, se prepară o soluție conform indicațiilor de la punctul 5.1.1 sau 5.1.2.

5.1.1. Caz general

Se cântărește, cu precizie de 1 mg, cel puțin 1 g din probă. Se introduce proba de analiză într-un balon Kjeldahl, se adaugă 20 ml de acid sulfuric (3.5), se agită pentru a impregna complet substanța cu acid și pentru a evita ca substanța să adere pe pereții balonului, se încălzește și se menține la fierbere timp de 10 minute. Se lasă să se răcească lent, se adaugă 2 ml de acid azotic (3.4), se încălzește încet, se lasă să se răcească lent, se adaugă din nou puțin acid azotic (3.4) și se aduce la fierbere. Se repetă aceste operații până la obținerea unei soluții incolore. Se răcește, se adaugă puțină apă, se transvazează lichidul într-un balon gradat de 500 ml, clătind balonul Kjeldahl cu apă caldă. Se lasă la răcit, se completează restul volumului cu apă, se omogenizează și se filtrează.

5.1.2. Probe care conțin substanțe organice și sunt lipsite de ortofosfați monobazici de calciu și magneziu

Se cântăresc, cu precizie de 1 mg, în jur de 2,5 g de probă, într-un creuzet de incinerare. Se amestecă în mod profund proba de analiză cu 1 g de carbonat de calciu (3.1). Se calcinează în cuptor la $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ până se obține o cenușă albă sau gri (nu deranjează existența unei cantități mici de cărbune). Se transvazează cenușa într-un pahar de laborator de 250 ml. Se adaugă 20 ml de apă și de acid clorhidric (3.2) până la încetarea efervescenței. Se adaugă apoi 10 ml de acid clorhidric (3.2) în exces. Se așază paharul pe o baie de nisip și se evaporă în stare uscată pentru a face insolubilă silicea. Se ia din nou reziduul cu 10 ml de acid azotic (3.3) și se fierbe timp de 5 minute pe o baie de nisip, fără evaporare în stare uscată. Se transvazează lichidul într-un balon gradat de 500 ml, clătind paharul de mai multe ori cu apă caldă. Se lasă să se răcească, se completează restul volumului cu apă, se omogenizează și se filtrează.

5.2. Dezvoltarea colorației și măsurarea densității optice

Se diluează o parte alicotă a filtratului obținut la punctul 5.1.1 sau 5.1.2 pentru a obține o concentrație a fosforului de cel mult 40 $\mu\text{g/ml}$. Se introduc 10 ml din această soluție într-o erubetă (4.6) și se adaugă 10 ml de reactiv vanado-molibdenic (3.6). Se omogenizează și se lasă în repaus cel puțin 10 minute la temperatura de 20 $^{\circ}\text{C}$. Se măsoară densitatea optică utilizând un spectrofotometru la 430 nm, prin comparație cu o soluție obținută prin adăugarea a 10 ml de reactiv vanado-molibdenic (3.6) la 10 ml de apă.

5.3. Curba de etalonare

Pornind de la soluția-etalon (3.7), se prepară soluții care conțin 5, 10, 20, 30 și, respectiv, 40 μg de fosfor la 1 ml. Se prelevează câte 10 ml din fiecare din aceste soluții și se adaugă 10 ml de reactiv vanado-molibdenic (3.6). Se omogenizează și se lasă în repaus cel puțin 10 minute la temperatura de 20 $^{\circ}\text{C}$. Se măsoară densitățile optice în condițiile indicate la punctul 5.2.

Se trasează curba de etalonare trecând în ordonată valorile densității optice și în abscisă cantitățile corespunzătoare de fosfor. Curba este liniară pentru concentrații cuprinse între 0 și 40 $\mu\text{g/ml}$.

6. Calcularea rezultatelor

Se determină cantitatea de fosfor din proba de analiză prin raportare la curba de etalonare.

Se exprimă rezultatul în procente din probă.

Repetabilitate

Diferența dintre rezultatele obținute la două determinări paralele efectuate pe aceeași probă nu trebuie să depășească:

3 % în valoare relativă pentru conținuturile de fosfor mai mici de 5 %;

0,15 % în valoare absolută pentru conținuturile de fosfor egale sau mai mari de 5 %.

IV. DOZAREA SUBSTANȚELOR GRASE BRUTE

1. **Obiect și domeniu de aplicare**

Metoda permite determinarea conținutului de substanțe grase brute al furajelor. Metoda nu se referă la analiza semințelor și a fructelor oleaginoase definite în Regulamentul 136/66/CEE al Consiliului din 22 septembrie 1966. Determinarea conținutului de ulei al acestor produse face obiectul anexei V la Regulamentul (CEE) nr. 1470/68 al Comisiei din 23 septembrie 1968.

Se specifică două procedee, în funcție de natura furajelor.

- 1.1. *Procedeul A* (extract eterat): aplicat la toate furajele, cu excepția celor menționate la punctul 1.2.
- 1.2. *Procedeul B*: aplicat la furajele ale căror substanțe grase nu pot fi extrase în totalitate cu eter dietilic, fără o hidroliză prealabilă, la furaje, gluteni, pulpe uscate de cartofi, borhoturi uscate de la fabrici de bere și distilerii, drojdii uscate, deșeuri de la fabricarea biscuiților, a sortimentelor de pâine și a furajelor coapte, produse lactate și furaje care conțin astfel de produse într-o proporție mare (cel puțin 40 %), precum și furajele compuse îmbogățite în grăsimi.

2. **Principiu**

- 2.1. *Procedeul A*: substanțele grase se extrag cu eter dietilic. Solventul se elimină, iar reziduul se usucă și se cântărește.
- 2.2. *Procedeul B*: proba se hidrolizează la cald cu acid clorhidric. Soluția se răcește și se filtrează. Reziduul, spălat și uscat, este supus extracției cu eter dietilic conform procedurii A.

3. **Reactivi**

- 3.1. Eter dietilic anhidru, d: 0,720, punct de fierbere: 34,5 °C, lipsit practic de peroxizi.
- 3.2. Sulfat de sodiu pentru analiză, anhidru.
- 3.3. Acid clorhidric 3 N.
- 3.4. Auxiliar de filtrare, de exemplu diatomit, „Hyflo-supercel”.
- 3.5. Tetraclorură de carbon pentru analiză.

4. **Aparatură**

- 4.1. Extractor de tip Soxhlet sau un aparat echivalent.
- 4.2. Aparat de încălzit la o temperatură reglabilă, protejat contra exploziilor.
- 4.3. Etuvă pentru uscare cu vid (sub 100 torr).

5. **Mod de lucru**

- 5.1. *Procedeul A* (a se vedea punctul 7.1)

Se cântăresc, cu o precizie de 1 mg, 5 g de probă și se amestecă cu 2 până la 3 g (sau mai mult dacă este necesar) de sulfat de sodiu anhidru (3.2). Se introduce amestecul într-un cartuș de extracție lipsit de substanțe grase și se acoperă complet cu un tampon de bumbac degresat. (Amestecul poate fi eventual realizat în cartuș).

Se introduce cartușul într-un extractor (4.1) și se face o extracție cu eter dietilic (3.1) timp de șase ore. Dacă se utilizează un extractor de tip Soxhlet, se reglează încălzirea pentru a obține cel puțin 15 sifonări pe oră. Se colectează extractul eterat într-un balon uscat, prevăzut cu câteva bucăți de piatră ponce ⁽¹⁾ și având stabilită tara.

(¹) Se înlocuiesc bucățile de piatră ponce cu bile de sticlă atunci când substanțele grase trebuie să facă obiectul unor examinări calitative ulterioare.

Se elimină eterul prin distilare și se usucă apoi reziduul de evaporare timp de o oră și jumătate în etuva pentru uscare cu vid (4.3), la temperatura de 75 °C. Se răcește într-un excicator și se cântărește. Se efectuează o a doua uscare timp de 30 de minute, pentru a se asigura că greutatea substanțelor grase rămâne constantă (pierderea în greutate trebuie să fie mai mică de 1 mg).

5.2. *Procedul B*

Se cântăresc, cu o precizie de 1 mg, 2,5 g de probă (vezi observația 7.2) și se introduc într-un pahar de laborator de 400 ml sau un pahar Erlenmeyer de 300 ml. Se adaugă 100 ml de acid clorhidric 3 N (3.3) și câteva bucăți de piatră ponce. Se acoperă complet paharul cu o sticlă de ceas ori se atașează paharului Erlenmeyer un condensator de reflux. Se aduce amestecul la fierbere lentă, cu ajutorul unei flăcări mici sau al unei plite de încălzire, menținându-se timp de o oră. Se evită aderarea produsului pe pereții vasului.

Se răcește și se adaugă o cantitate de auxiliar de filtrare (3.4), suficientă pentru a evita orice pierdere de substanțe grase în cursul filtrării. Se filtrează pe o hârtie de filtru dublă, umezită, lipsită de substanțe grase. Se spală reziduul cu apă rece până la dispariția unei reacții acide. Se verifică dacă filtratul conține substanțe grase. Prezența acestora în filtrat indică faptul că trebuie să se efectueze înaintea hidrolizei o extracție a probei cu eter dietilic, conform procedurii prezentat la punctul 5.1.

Se așază hârtia de filtru dublă, care conține reziduul, pe o sticlă de ceas și se usucă timp de o oră și jumătate în etuvă, la o temperatură între 95 și 98 °C.

Se introduce filtrul dublu și reziduul uscat într-un cartuș de extracție, se supune extracției cu eter dietilic și se continuă operațiile prezentate la al doilea paragraf de la punctul 5.1.

6. **Calcularea rezultatelor**

Se exprimă rezultatul în procente din probă.

Repetabilitate

Diferența dintre rezultatele obținute la două determinări paralele efectuate pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,3 % substanțe grase.

7. **Observații**

7.1. Pentru produsele cu un conținut ridicat de substanțe grase, care se sfărâmă cu dificultate sau nu sunt adecvate prelevării unei probe de analiză omogenă, se procedează după cum urmează. Se cântăresc, cu o precizie de 1 mg, 20 g de probă și se amestecă cu 10 g sau mai mult de sulfat de sodiu anhidru (3.2). Se efectuează extracția cu eter dietilic (3.1), conform indicațiilor de la punctul 5.1. Se completează extractul obținut cu tetraclorură de carbon (3.5) până la 500 ml și se omogenizează. Se prelevează 50 ml de soluție și se introduc într-un mic balon uscat, prevăzut cu câteva bucăți de piatră ponce ⁽¹⁾ și având stabilită tara. Se elimină solventul prin distilare, se usucă și se continuă operațiile prezentate la ultimul paragraf de la punctul 5.1. Se elimină solventul din reziduul de extracție care se află în cartuș și se sfărâmă reziduul până la un grad de sfărâmare de 1 mm. Se introduce din nou produsul în cartușul de extracție (fără a mai adăuga sulfat de sodiu), se supune extracției cu eter dietilic și se continuă operațiile prezentate la al doilea și al treilea paragraf de la punctul 5.1.

Se calculează rezultatul în procente de probă, ținând cont de partea alicotă utilizată în cursul primei extracții, conform formulei de mai jos:

$$(10 a + b) \cdot 5$$

unde:

a = extractul eterat, în grame, al părții alicote, după prima extracție,

b = extractul eterat, în grame, după a doua extracție.

7.2. Proba de analiză pentru produsele sărace în substanțe grase poate să fie mărită la 5 g.

⁽¹⁾ Se înlocuiesc bucățile de piatră ponce cu bile de sticlă atunci când substanțele grase trebuie să facă obiectul unor examinări calitative ulterioare.