31971L0393

1971 12 20 *EUROPOS BENDRIJŲ OFICIALUSIS LEIDINYS* L 279/7

# ANTROJI KOMISIJOS DIREKTYVA

## 1971 m. lapkričio 18 d.

## nustatanti oficialiai pašarų kontrolei taikytinus Bendrijos analizės metodus

(71/393/EEB)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos ekonominės bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1970 m. liepos 20 d. Tarybos direktyvą dėl Bendrijos mėginių atrankos ir analizės metodų, vykdant oficialią pašarų kontrolę, įvedimo ([1]), ypač į jos 2 straipsnį,

kadangi toje direktyvoje reikalaujama, kad oficiali pašarų kontrolė būtų vykdoma taikant Bendrijos mėginių atrankos ir analizės metodus, siekiant patikrinti, ar jie atitinka reikalavimus, kuriuos numato įstatymai ir kiti teisės aktai dėl pašarų kokybės ir sudėties;

kadangi 1971 m. birželio 15 d. Komisijos direktyvoje 71/250/EEB ([2]) jau nustatyta daugelis Bendrijos analizės metodų; kadangi dėl vėliau pasiektos darbo pažangos patartina priimti antrąją metodų grupę;

kadangi šioje direktyvoje numatytos priemonės atitinka Pašarų nuolatinio komiteto išvadas,

PRIĖMĖ ŠIĄ DIREKTYVĄ:

*1 straipsnis*

Valstybės narės reikalauja, kad drėgnio, lakios azoto bazės, suminio fosforo ir žalio aliejaus ir riebalų kiekio pašaruose oficialiai kontrolei reikalingos analizės būtų atliekamos taikant metodus, apibūdintus šios direktyvos priede.

Šios direktyvos priede apibūdintiems metodams taikomos bendrosios nuostatos, pateiktos 1971 m. birželio 15 d. Pirmosios Komisijos direktyvos 71/250/EEB, nustatančios Bendrijos analizės metodus, kuriuos valstybės institucijos taiko pašarams kontroliuoti, priedo I dalyje (įžangoje).

*2 straipsnis*

Valstybės narės priima įstatymus ir kitus teisės aktus, kurie, įsigalioję ne vėliau kaip iki 1973 m. sausio 1 d., įgyvendina šią direktyvą. Apie tai jos nedelsdamos praneša Komisijai.

*3 straipsnis*

Ši direktyva skirta valstybėms narėms.

Priimta Briuselyje, 1971 m. lapkričio 18 d.

*Komisijos vardu*

*Pirmininkas*

Franco M. MALFATTI

([1]) OL L 170, 1970 8 3, p. 2.
([2]) OL L 155, 1971 7 12, p. 13.

*PRIEDAS*

## I. **DRĖGNIO NUSTATYMAS**

### 1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu galima nustatyti drėgnį pašaruose. Jis netaikomas analizuojant pieno produktus kaip paprastuosius pašarus, mineralines medžiagas, taip pat mišinius, kurie daugiausia susideda iš mineralinių medžiagų, arba aliejinių augalų sėklas ir vaisius, apibūdintus 1966 m. rugsėjo 22 d. Tarybos reglamente Nr. 136/66/EEB ([1]) dėl aliejų ir riebalų rinkos bendro organizavimo sukūrimo.

Drėgnio nustatymas aliejinių augalų sėklose ir vaisiuose apibūdintas 1968 m. rugsėjo 23 d. Komisijos reglamento (EEB) Nr. 1470/68 ([2]) dėl aliejinių augalų sėklų mėginių ėmimo bei mėginių sudarymo ir riebalų kiekio, priemaišų ir drėgnio jose nustatymo III priede.

### 2. **Metodo esmė**

Mėginys džiovinamas nurodytomis sąlygomis, kurios priklauso nuo pašarų pobūdžio. Masės sumažėjimas nustatomas sveriant. Tiriant kietuosius pašarus, kurių drėgnis didelis, būtina atlikti paruošiamąjį džiovinimą.

### 3. **Prietaisai**

3.1. Smulkintuvas, pagamintas iš drėgmės nesugeriančių medžiagų, lengvai nuvalomas, kuriuo galima greitai ir vienodai susmulkinti mėginį, prižiūrint, kad jis per daug neįkaistų, ir kuris kiek įmanoma apsaugo mėginį nuo sąlyčio su išorės oru bei atitinka 4.1.1 ir 4.1.2 nustatytus reikalavimus (pvz., plaktukiniai ar vandeniu aušinami mikrosmulkintuvai, sudedami kūginiai malūnėliai, lėtų apsukų ar krumpliaratiniai smulkintuvai).

3.2. 0,5 mg tikslumo analizinės svarstyklės.

3.3. Sausi nerūdijančio metalo ar stikliniai indai su dangčiais, užtikrinančiais sandarumą; darbinis paviršius, ant kurio būtų galima paskleisti mėginį apie 0,3 g/cm$^2$.

3.4. Elektra kaitinama izoterminė džiovinimo spinta (± 1° C), užtikrinanti reikiamą vėdinimą ir greitą temperatūros reguliavimą ([3]).

3.5. Reguliuojama elektra kaitinama vakuuminė džiovinimo spinta, kurioje įtaisytas alyvos siurblys ir mechanizmas, kuriuo galima įleisti karšto sauso oro, arba džioviklis (pvz., kalcio oksidas).

3.6. Eksikatorius su stora perforuoto metalo arba porceliano plokšte ir veiksmingu džiovikliu.

### 4. **Matavimas**

*NB:* Šiame skirsnyje apibūdinti veiksmai turi būti atliekami nedelsiant, vos tik atidarius mėginių pakuotes. Analizė turi būti atliekama bent du kartus.

4.1. *Mėginių paruošimas*

4.1.1. *Pašarai, neįtraukti į 4.1.2 ir 4.1.3*

Paimkite bent 50 g mėginio. Jei reikia, sugrūskite arba susmulkinkite tokiu būdu, kad išvengtumėte bet kokio drėgnio pokyčio (žr. 6).

4.1.2. *Javai ir kruopos*

Paimkite bent 50 g mėginio. Susmulkinkite į daleles, kurių bent 50 % išbyrės per 0,5 mm skersmens skylučių sietelį ir tik 10 % liks neišbyrėję per 1 mm skersmens apvalių akučių sietelį.

([1]) OL 127, 1966 9 30, p. 3025/66.
([2]) OL 239, 1968 9 28, p.2.
([3]) Džiovinimo spintos grūdams, miltams, kruopoms ir pašariniams miltams džiovinti terminis galingumas turi būti toks, kad nustačius 131° C temperatūrą, spinta, į kurią džiūti vienu metu įdedamas didžiausias galimas mėginių kiekis, vėl įkaistų iki tos temperatūros per mažiau kaip 45 minutes. Ventiliacija turi būti tokia, kad dvi valandas spintoje džiovinus tiek įprastinių kviečių mėginių, kiek telpa, gauti rezultatai skirtųsi nuo rezultatų, gautų po 4 valandų džiovinimo, mažiau nei 0,15 %.

4.1.3. *Skysti ar tiršti pašarai, daugiausia iš aliejų ir riebalų susidedantys pašarai*

Paimkite apie 25 g mėginio, pasverkite 10 mg tikslumu, pridėkite reikiamą kiekį bevandenio smėlio, pasverto 10 mg tikslumu, ir maišykite, kol gausite vientisą produktą.

4.2. *Džiovinimas*

4.2.1. *Pašarai, neįtraukiami 4.2.2 ir 4.2.3*

Pasverkite indą su dangčiu (3.3) 0,5 mg tikslumu. Pasverkite 1 mg tikslumu apie 5 g mėginio ir įdėję į pasvertą indą lygiai paskleiskite. Įdėkite neuždengtą indą į džiovinimo spintą, įkaitintą iki 103° C. Kad spintos temperatūra per daug nenukristų, indą dėkite kuo greičiau. Kai spintos temperatūra vėl pasieks 103° C, keturias valandas džiovinkite. Uždenkite indą, išimkite iš džiovinimo spintos, palikite 30–45 min eksikatoriuje (3.6) atvėsti ir pasverkite 1 mg tikslumu.

Pašarus, kuriuose vyrauja aliejus ir riebalai, padžiovinkite džiovinimo spintoje dar 30 min 130° C temperatūroje. Skirtumas tarp dviejų svėrimo rezultatų neturi viršyti 0,1 % drėgmės.

4.2.2. *Javai, miltai, kruopos ir rupūs miltai*

Pasverkite indą su dangčiu (3.3) 0,5 mg tikslumu. Pasverkite 1 mg tikslumu apie 5 g susmulkinto mėginio ir įdėję į pasvertą indą lygiai paskleiskite. Įdėkite neuždengtą indą į džiovinimo spintą, įkaitintą iki 130° C. Kad spintos temperatūra per daug nenukristų, indą dėkite kuo greičiau. Kai spintos temperatūra vėl pasieks 130° C, dvi valandas džiovinkite. Uždenkite indą, išimkite iš džiovinimo spintos, palikite 30–45 min eksikatoriuje (3.6) atvėsti ir pasverkite 1 mg tikslumu.

4.2.3. *Kombinuotieji pašarai, kuriuose yra daugiau negu 4 % sacharozės arba laktozės: paprastieji pašarai, tokie kaip saldžiavaisio pupmedžio ankštys (Ceratonia siliqua), hidrolizuoti javų produktai, salyklas, džiovinti runkelių griežiniai, žuvies skysčio kondensatas ir cukraus žlaugtai; kombinuotieji pašarai, kuriuose yra daugiau negu 25 % mineralinių druskų, įskaitant kristalizacinį vandenį.*

Pasverkite indą (3.3) su dangčiu 0,5 mg tikslumu. Pasverkite 1 mg tikslumu apie 5 g mėginio ir įdėję į pasvertą indą lygiai paskleiskite. Įdėkite neuždengtą indą į vakuuminę džiovinimo spintą (3.5), įkaitintą iki 80–85 °C. Kad džiovinimo spintos temperatūra per daug nenukristų, indą dėkite kuo greičiau.

Nustatykite slėgį iki 13,332 kPa (100 mm Hg st.) ir tokiame slėgyje keturias valandas džiovinkite arba su karšto sauso oro srove, arba naudodami džioviklį (20 mėginių reikia apie 300 g). Pastaruoju atveju, pasiekę nurodytą slėgį, išjunkite vakuuminį siurblį. Skaičiuokite džiovinimo laiką nuo to momento, kai džiovinimo spintos temperatūra vėl pakyla iki 80–85° C. Atsargiai sugrąžinkite džiovinimo spintos režimą į atmosferos slėgį. Atidarykite spintą, nedelsdami uždenkite indą, išimkite jį iš spintos, palikite 30–45 min eksikatoriuje (3.6) atvėsti ir pasverkite 1 mg tikslumu. Džiovinkite dar 30 min vakuuminėje džiovinimo spintoje 80–85° C temperatūroje ir dar kartą pasverkite. Skirtumas tarp šių dviejų svėrimų rezultatų neturi viršyti 0,1 % drėgnio.

4.3. *Paruošiamasis džiovinimas*

4.3.1. *Pašarai, neįtraukti į 4.3.2*

Kietieji labai drėgni pašarai, kuriuos sunku susmulkinti, turi būti iš anksto džiovinami tokiu būdu:

Pasverkite 50 g *nesusmulkinto* mėginio 10 mg tikslumu (jei būtina, suspaustus ar aglomeruotus pašarus galima stambiai sutrupinti) ir įdėkite į tinkamą indą (pvz., ant 20x12 cm aliuminio plokštelės su 0,5 cm kraštelių). Džiovinkite džiovinimo spintoje 60–70° C temperatūroje, kol drėgnis sumažės iki 8–12 %. Išimkite iš džiovinimo spintos, valandą vėsinkite neuždengtą laboratorijoje ir pasverkite 10 mg tikslumu. Nedelsdami susmulkinkite, kaip nurodyta 4.1.1, ir išdžiovinkite, kaip nurodyta 4.2.1 arba 4.2.3, atsižvelgdami į pašarų pobūdį.

4.3.2. *Javai*

Javai, kurių drėgnis didesnis negu 17 % turi būti iš anksto džiovinami tokiu būdu:

Pasverkite 10 mg tikslumu 50 g *nemaltų* javų ir įdėkite į tinkamą indą (pvz., ant 20x12 cm aliuminio plokštelės su 0,5 cm krašteliu). 5–7 min džiovinkite džiovinimo spintoje, įkaitintoje iki 130° C. Išimkite iš džiovinimo spintos, dvi valandas neuždengtą vėsinkite laboratorijoje ir pasverkite 10 mg tikslumu. Nedelsdami sumalkite, kaip nurodyta 4.1.2, ir išdžiovinkite, kaip nurodyta 4.2.2.

5. **Rezultatų skaičiavimas**

Drėgnis mėginio procentais apskaičiuojamas taikant šias formules:

5.1. *Džiovinimas, kai nereikia paruošiamojo džiovinimo:*

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

čia:

E = mėginio pradinė masė gramais,

m = sauso mėginio masė gramais.

5.2. *Džiovinimas, kai reikia parengiamojo džiovinimo:*

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

čia:

E = mėginio pradinė masė gramais,

M = mėginio masė gramais po parengiamojo džiovinimo,

M' = mėginio masė gramais susmulkinus ar sumalus,

m = sauso mėginio masė gramais.

5.3. *Pakartojamumas*

Dviejų to paties mėginio lygiagrečiai atliktų matavimų rezultatų skirtumas neturi būti didesnis kaip 0,2 % drėgnio.

6. **Pastaba**

Jei pasirodo, kad mėginį būtina susmulkinti, ir pastebima, kad tada produkto drėgnis pakinta, pašarų komponentų analizės rezultatus reikia pataisyti pagal mėginio drėgnį pradiniame būvyje.

## II. **LAKIŲ AZOTO BAZIŲ NUSTATYMAS**

### A. MIKRODIFUZIJA

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu galima nustatyti pašaruose esančių lakių azoto bazių kiekį, išreikštą amoniaku.

2. **Metodo esmė**

Mėginys ekstrahuojamas vandeniu, o tirpalas skaidrinamas ir filtruojamas. Lakios azoto bazės išstumiamos mikrodifuzijos būdu, naudojant kalio karbonato tirpalą, surenkamos boro rūgšties tirpale ir titruojamas sulfato rūgštimi.

3. **Reagentai**

3.1. 20 % (w/v) trichloracto rūgšties tirpalas.

3.2. Indikatorius: ištirpinkite 33 mg bromokresolio žaliojo ir 65 mg metilraudonojo 100 ml 95–96 % (v/v) etanolio.

3.3. Boro rūgšties tirpalas: 1 l matavimo kolboje ištirpinkite 10 g boro rūgšties, a.r. 200 ml 95–96 % (v/v) etanolio ir 700 ml vandens. Įpilkite 10 ml indikatoriaus (3.2). Sumaišykite ir, jei reikia, padarykite tirpalą šviesiai raudonos spalvos, papildomai įpildami natrio hidroksido tirpalo. 1 ml šio tirpalo sujungs daugiausia 300 μg $NH_3$.

3.4. Sotusis kalio karbonato tirpalas: ištirpinkite 10 Og kalio karbonato, a. r. 100 ml verdančio vandens. Atvėsinkite, filtruokite.

3.5. Sulfato rūgštis 0,01 mol/l.

4. **Prietaisai**

4.1. Maišiklis (vartytuvas): apie 35–40 apsisukimų per minutę.

4.2. Stiklinės arba plastikinės *Conway* kiuvetės (žr. piešinį).

4.3. Mikrobiuretės, sugraduotos 1/100 ml.

5. **Matavimas**

Pasverkite 10 g mėginio 1 mg tikslumu ir kartu su 100 ml vandens supilkite į 200 ml matavimo kolbą. 30 minučių maišykite vartytuve. Įpilkite 50 ml trichloracto rūgšties tirpalo (3.1), skieskite vandeniu iki žymės, energingai suplakite ir filtruokite per klostuotą filtrą.

Su pipete įlašinkite 1 ml boro rūgšties tirpalo (3.3) į *Conway* kiuvetės centrinę dalį ir 1 ml mėginio filtrato į kiuvetės išorinį žiedą. Iš dalies uždenkite tepalu pateptu dangčiu. Greitai įlašinkite 1 ml sočiojo kalio karbonato tirpalo (3.4) į išorinį žiedą ir uždenkite taip, kad į kiuvetę nepatektų oro. Atsargiai pasukinėkite kiuvetę apie ašį horizontalioje plokštumoje taip, kad abu reagentai susimaišytų. Palikite inkubacijai kambario temperatūroje bent 4 valandas, arba 40° C temperatūroje 1 valandą.

Naudodamiesi mikrobiurete (4.3), titruokite lakias bazes boro rūgšties tirpale su 0,01 mol/l sulfato rūgštimi (3.5).

Atlikite tuščiąjį bandymą laikydamiesi tos pačios darbo tvarkos, bet be analizuojamo mėginio.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

1 ml $H_2SO_4$ 0,01 mol/l atitinka 0,34 mg amoniako.

Rezultatus išreikškite mėginio masės procentais.

*Pakartojamumas*

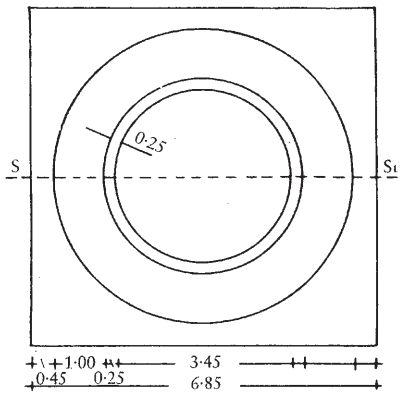
Dviejų lygiagrečiai atliktų to paties mėginio matavimų rezultatai negali skirtis daugiau kaip:

10 % santykinės vertės, kai amoniako kiekis mažesnis negu 1,0 %;

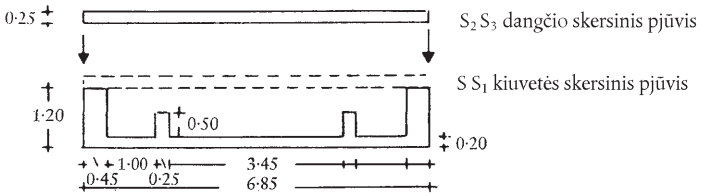
0,1 % absoliučios vertės, kai amoniako kiekis 1,0 % ir daugiau.

7. **Pastaba**

Jei amoniako kiekis mėginyje viršija 0,6 %, skieskite pradinį filtratą.

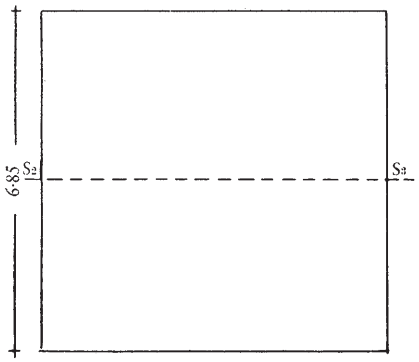



Kiuvetės brėžinys




$S_2 S_3$ dangčio skersinis pjūvis

S $S_1$ kiuvetės skersinis pjūvis




Matinio stiklo dangčio brėžinys

B. DISTILIAVIMO BŪDAS

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu galima nustatyti lakių azoto bazių kiekį, išreikštą amoniaku, žuvies miltuose, kuriuose beveik nėra karbamido. Jį galima taikyti tik mažesniems negu 0,25 % amoniako kiekiams.

2. **Metodo esmė**

Mėginys ekstrahuojamas vandeniu, o tirpalas skaidrinamas ir filtruojamas. Lakios azoto bazės išskiriamos virimo temperatūroje, pridedant magnio oksido, ir surenkamos tam tikrame kiekyje sulfato rūgšties, kurios perteklius atvirkščiai titruojamas natrio hidroksido tirpalu.

3. **Reagentai**

3.1. 20 % (w/v) trichloracto rūgšties tirpalas.

3.2. Magnio oksidas, a.r.

3.3. Priešpučio emulsija (pvz., silikonas).

3.4. Sulfato rūgštis 0,05 mol/l.

3.5. Natrio hidroksido tirpalas 0,1 mol/l.

3.6. 0,3 % (w/v) metilraudonojo tirpalas 95–96 % (v/v) etanolyje.

4. **Prietaisai**

4.1. Maišiklis (vartytuvas): apie 35–40 apsisukimų per minutę.

4.2. Kjeldalio tipo distiliavimo aparatas.

5. **Matavimas**

Pasverkite 10 g mėginio 1 mg tikslumu ir supilkite kartu su 100 ml vandens į 200 ml matavimo kolbą. 30 minučių maišykite vartytuve. Įpilkite 50 ml trichloracto rūgšties tirpalo (3.1), skieskite iki žymės su vandeniu, gerai suplakite ir filtruokite per klostuotą filtrą.

Paimkite tiek skaidraus filtrato, kiek reikia numanomam lakios azoto bazės kiekiui (paprastai tinka 100 ml). Skieskite iki 200 ml ir pridėkite 2 g magnio oksido (3.2) bei keletą lašų priešpučio emulsijos (3.3). Tirpalas turi būti šarminis pagal lakmusą; priešingu atveju pridėkite šiek tiek magnio oksido (3.2). Išdistiliuokite apie 150 ml tirpalo Kjeldalio aparate ir surinkite distiliatą Erlenmeyerio kolboje su tiksliai išmatuotu 0,05 mol/l sulfato rūgšties tirpalo (3.4) tūriu (25–50 ml). Distiliuodami stenkitės neperkaitinti kraštų. Pavirkite sulfato rūgšties tirpalą dvi minutes, atvėsinkite ir atvirkštinio titravimo būdu nutitruokite sulfato rūgšties perteklių su 0,1 mol/l natrio hidroksido tirpalu (3.5), naudodamiesi metilraudonojo indikatoriumi (3.6).

Atlikite *tuščiąjį bandymą*, laikydamiesi tos pačios darbo tvarkos, bet be analizuojamo mėginio.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

1 ml $H_2SO_4$ 0,05 mol/l atitinka 1,7 mg amoniako.

Išreikškite rezultatus mėginio masės procentais.

*Pakartojamumas*

Skirtumas tarp dviejų lygiagrečių to paties mėginio bandymų rezultatų negali viršyti 10 % amoniako santykinės vertės.

## III. **SUMINIO FOSFORO KIEKIO NUSTATYMAS**

FOTOMETRINIS METODAS

### 1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu galima nustatyti suminio fosforo kiekį pašaruose. Jis labiausiai tinka analizuoti produktus, kuriuose nedaug fosforo. Kai kuriais atvejais (kai produkte daug fosforo) galima taikyti gravimetrinį metodą.

### 2. **Metodo esmė**

Mėginys mineralizuojamas sausuoju degimu (organiniams pašarams) arba deginimu rūgštyje (mineraliniams junginiams ir skystiems pašarams) ir įdedamas į rūgšties tirpalą. Tirpalas paveikiamas molibdovanadato reagentu. Taip susidariusio geltono tirpalo optinis tankis matuojamas spektrofotometru 430 nm bangų ilgio srityje.

### 3. **Reagentai**

3.1. Kalcio karbonatas, a.r.

3.2. Vandenilio chloridas, a.r., ρ = 1,1 kg/l. (apie 6 mol/l).

3.3. Nitrato rūgštis, a.r., ρ = 1,045 kg/l.

3.4. Nitrato rūgštis, a.r., ρ = (1,38–1,42) kg/l.

3.5. Sulfato rūgštis, a.r., ρ = 1,84 kg/l.

3.6. Molibdovanadato reagentas: sumaišykite 200 ml amonio heptamolibdato tirpalo (3.6.1), 200 ml amonio monovanadato tirpalo (3.6.2) ir 134 ml nitrato rūgšties (3.4) 1 litro matavimo kolboje. Skieskite su vandeniu iki žymės.

3.6.1. Amonio heptamolibdato tirpalas: ištirpinkite karštame vandenyje 100 g amonio heptamolibdato tetrahidrato, a.r.

$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.{}^4H_2O$. Pridėkite 10 ml amoniako (ρ = 0,91 kg/l) ir skieskite su vandeniu iki 1 l.

3.6.2. Amonio hipovanadato tirpalas: 2,35 g amonio hipovanadato, a.r. $NH_4VO_3$ ištirpinkite 400 ml karšto vandens. Nuolat maišydami, lėtai įpilkite 20 ml praskiestos nitrato rūgšties (7 ml $HNO_3$ (3.4) ir 13 ml $H_2O$) ir skieskite su vandeniu iki 1 l.

3.7. Etaloninis fosforo tirpalas 1 mg/ml: ištirpinkite 4,387 g kalio dihidrofosfato, a.r. $KH_2PO_4$ vandenyje. Skieskite su vandeniu iki 1 l.

### 4. **Prietaisai**

4.1. Kvarciniai arba porcelianiniai tigliai mėginiui sudeginti.

4.2. Elektrinė mufelinė krosnis su termorele, nustatyta 550° C.

4.3. 250 ml Kjeldalio kolba.

4.4. Matavimo kolbos ir tikslios pipetės.

4.5. Spektrofotometras.

4.6. Apie 16 mm skersmens mėgintuvėliai su 14,5 mm skersmens konusiniais kamščiais; talpa: 25–30 ml.

### 5. **Matavimas**

5.1. *Tirpalo paruošimas*

Atsižvelgdami į mėginio pobūdį, paruoškite tirpalą, kaip nurodyta 5.1.1. arba 5.1.2.

5.1.1. *Įprastinė darbo tvarka*

Pasverkite 1 g arba daugiau mėginio 1 mg tikslumu. Įdėkite mėginį į Kjeldalio kolbą, įpilkite 20 ml sulfato rūgšties (3.5), suplakite, kad medžiaga visiškai susimaišytų su rūgštimi ir kad neprikibtų prie kolbos kraštų, pakaitinkite ir pavirinkite 10 minučių. Leiskite truputį atvėsti, įpilkite 2 ml nitrato rūgšties (3.4), lengvai pakaitinkite, šiek tiek atvėsinkite, įpilkite dar šiek tiek nitrato rūgšties (3.4) ir vėl užvirinkite. Kartokite šią procedūrą, kol gausite bespalvį tirpalą. Atvėsinkite, įpilkite truputį vandens, dekantuokite skystį į 500 ml matavimo kolbą ir išskalaukite Kjeldalio kolbą karštu vandeniu. Palikite atvėsti, skieskite su vandeniu iki žymės, sumaišykite ir filtruokite.

5.1.2. *Mėginiai, kuriuose yra organinės medžiagos ir nėra kalcio ir magnio dihidrofosfatų*

Pasverkite apie 2,5 g mėginio 1 mg tikslumu deginimo tiglyje. Maišykite mėginį su 1 g kalcio karbonato (3.1), kol abi medžiagos visiškai susilies. Deginkite krosnyje 550° C ± 5° C temperatūroje, kol gausite baltus ar pilkus pelenus (nesvarbu, jei yra truputis medžio anglies). Perdėkite pelenus į 250 ml cheminę stiklinę. Įpilkite 20 ml vandens ir vandenilio chlorido (3.2), kol baigsis burbuliukų išsiskyrimas. Dar įpilkite 10 ml vandenilio chlorido (3.2). Pastatykite cheminę stiklinę ant smėlio vonios ir garinkite skystį, kol susidarys sausas netirpus kvarcas. Dar kartą ištirpinkite likutį 10 ml nitrato rūgšties (3.3) ir pavirinkite ant smėlio vonios 5 minutes, nelaukdami, kol sausai išgaruos. Dekantuokite skystį į 500 ml matavimo kolbą, keletą kartų išskalaudami stiklinę karštu vandeniu. Palikite atvėsti, skieskite su vandeniu iki žymės, sumaišykite ir filtruokite.

5.2. *Nuspalvinimas ir optinio tankio matavimas*

Pagal 5.1.1 arba 5.1.2 gauto filtrato alikvotinę dalį skieskite, kad gautumėte ne didesnę kaip 40 µg/ml fosforo koncentraciją. Į mėgintuvėlį (4.6) įpilkite 10 ml šio tirpalo ir 10 ml molibdovanadato reagento (3.6). Išmaišykite ir palikite pastovėti bent 10 minučių 20° C temperatūroje. Išmatuokite optinį tankį spektrofotometru 430 nm bangų ilgio srityje, prieš tirpalą, gautą įdėjus 10 ml molibdovanadato reagento (3.6) į 10 ml vandens.

5.3. *Kalibracinė kreivė*

Iš etaloninio tirpalo (3.7) paruoškite tirpalus su fosforo koncentracijomis 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml ir 40 µg/ml. Paimkite po 10 ml kiekvieno iš šių tirpalų ir pridėkite į juos po 10 ml molibdovanadato reagento (3.6). Išmaišykite ir palikite pastovėti bent 10 minučių 20° C temperatūroje. Išmatuokite optinį tankį, kaip nurodyta 5.2.

Nubrėžkite kalibracinę kreivę, atidėdami optinius tankius prieš atitinkamus fosforo kiekius. Koncentracijoms nuo 0 µg/ml iki 40 µg/ml kreivė bus linijinė.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Remdamiesi kalibracine kreive, nustatykite fosforo kiekį mėginyje.

Išreikškite rezultatus mėginio masės procentais.

*Pakartojamumas*

Skirtumas tarp dviejų lygiagrečių to paties mėginio bandymų rezultatų negali būti didesnis negu:

3 % santykine verte, kai fosforo kiekis mažesnis negu 5 %;

0,15 % absoliučia verte, kai fosforo kiekis 5 % ir daugiau.

## IV. ŽALIO ALIEJAUS IR RIEBALŲ NUSTATYMAS

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu galima nustatyti žalio aliejaus ir riebalų kiekį pašaruose. Jis netaikomas aliejingųjų augalų sėklų ir vaisių, apibūdintų 1966 m. rugsėjo 22 d. Tarybos reglamente Nr. 136/66/EEB, analizei. Aliejaus kiekio šiuose produktuose nustatymas apibrėžtas 1968 m. rugsėjo 23 d. Komisijos reglamento (EEB) Nr. 1470/68 V priede.

Atsižvelgiant į pašarų pobūdį ir sudėtį, gali būti taikomas vienas iš dviejų metodų.

1.1. *Metodas A* (ekstrahavimas eteriu): taikomas visiems pašarams, išskyrus aptartus 1.2 punkte.

1.2. *Metodas B*: taikomas pašarams, iš kurių dietileteriu negalima išekstrahuoti visų aliejų ir riebalų, jeigu prieš tai nėra atlikta hidrolizė, gyvūninės kilmės pašarams, glitimui, džiovintai bulvių masei, džiovintoms po alaus arba degtinės darymo susidarančioms atliekoms, džiovintoms mielėms, atliekoms nuo sausainių, duonos ir kepinių, pieno produktams ir pašarams, kurių pagrindą sudaro tokie produktai (bent 40 %), ir kombinuotiems pašarams, pagerintiems riebalais.

2. **Metodo esmė**

2.1. *Metodas A*: Aliejai ir riebalai ekstrahuojami dietileteriu. Tirpiklis nudistiliuojamas, o likutis išdžiovinamas ir pasveriamas.

2.2. *Metodas B*: Mėginys hidrolizuojamas karštu vandenilio chloridu rūgštimi. Tirpalas atvėsinamas ir filtruojamas. Likutis išplaunamas bei išdžiovinamas ir ekstrahuojamas dietileteriu taikant A metodą.

3. **Reagentai**

3.1. Bevandenis dietileteris, ρ = 0,720 g/ml, virimo temperatūra 34,5° C, faktiškai be peroksidų.

3.2. Bevandenis dinatrio sulfatas, a. r.

3.3. Vandenilio chloridas, 3 mol/l.

3.4. Filtravimą greitinančios priemonės, pvz., diatomitas, Hyflo-superkiuvetė.

3.5. Tetrachlormetanas, a. r.

4. **Prietaisai**

4.1. Soksleto ekstraktorius arba ekvivalentiškas prietaisas.

4.2. Sprogimams atsparus kaitinimo aparatas su įtaisu kontroliuoti temperatūrą.

4.3. Vakuuminė džiovinimo spinta (mažiau negu 13,33 kPa).

5. **Matavimas**

5.1. *A metodas:* (žr. 7.1)

Pasverkite 5 g mėginio 1 mg tikslumu ir sumaišykite su 2–3 g (arba daugiau, jei reikia) bevandenio dinatrio sulfato (3.2). Įdėkite mišinį į ekstrahavimo kapsulę, kurioje nėra aliejų ir riebalų, ir uždenkite švariu, be riebalų vatos kamšteliu (maišyti galima kapsulėje).

Įdėkite kapsulę į ekstraktorių (4.1) ir ekstrahuokite 6 valandas su dietileteriu (3.1). Jei naudojamas Soksleto ekstraktorius, reguliuokite kaitinimą taip, kad tirpiklis pasikeistų bent 15 kartų per valandą. Surinkite eterio ekstraktą į sausą, pasvertą kolbą, kurioje yra susmulkintos pemzos ([1]).

Nudistiliuokite eterį ir džiovinkite likutį pusantros valandos vakuuminėje džiovinimo spintoje (4.3) 75° C temperatūroje. Išdžiovinkite eksikatoriuje ir pasverkite. Dar kartą džiovinkite 30 minučių, kad užtikrintumėte, jog aliejų ir riebalų svoris nekinta (svoris turi sumažėti ne daugiau kaip 1 mg).

5.2. *B metodas*

Pasverkite 2,5 g mėginio 1 mg tikslumu (žr. 7.2) ir suberkite į 400 ml menzūrą arba į 300 ml Erlenmeyerio kolbą. Pripilkite 100 ml 3 mol/l vandenilio chlorido tirpalo (3.3) ir sudėkite pemzos gabaliukus. Uždenkite menzūrą laikrodžio stiklu arba užkimškite Erlenmeyerio kolbą su grįžtamuoju kondensatoriumi. Mišinį kaitinkite ant lengvos ugnies ar karštos plokštės, kol pradės pamažu virti ir taip palaikykite vieną valandą. Neleiskite, kad produktas prikibtų prie indo kraštų.

([1]) Kai su aliejumi ar riebalais reikia vėliau dar atlikti kokybės bandymus, pemzos trupinius pakeiskite stiklo rutuliukais.

Atvėsinkite ir pridėkite filtravimą greitinančių priemonių (3.4) tiek, kad būtų galima užtikrinti, jog filtruojant nebus prarasta aliejų ir riebalų. Filtruokite per sudrėkintą, be riebalų dvigubą filtruojamąjį popierių. Išplaukite likutį šaltame vandenyje, kol filtratas taps neutralus. Patikrinkite, ar filtrate nėra jokių aliejų ar riebalų. Jei jų filtrate yra, vadinasi, prieš atliekant hidrolizę, mėginį reikia ekstrahuoti dietileteriu, taikant 5.1 nurodytą metodą.

Padėkite dvigubą filtruojamąjį popierių su likučiu ant laikrodžio stiklo ir džiovinkite pusantros valandos 95–98° C temperatūros džiovinimo spintoje.

Įdėkite dvigubą filtruojamąjį popierių ir sausą likutį į ekstrahavimo kapsulę, ekstrahuokite dietileteriu ir toliau atlikite bandymą taip, kaip nurodyta 5.1 antrame paragrafe.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Išreikškite rezultatus mėginio procentais.

*Pakartojamumas*

Skirtumas tarp dviejų lygiagrečių, to paties mėginio matavimų rezultatų turi neviršyti 0,3 % aliejų ar riebalų.

7. **Pastabos**

7.1. Produktų su dideliu aliejų bei riebalų kiekiu, ir kuriuos sunku susmulkinti arba iš kurių negalima paimti nedidelio homogeniško mėginio, matavimą atlikite tokia tvarka. Pasverkite 20 g mėginio 1 mg tikslumu ir sumaišykite su 10 g ar daugiau bevandenio dinatrio sulfato (3.2). Ekstrahuokite dietileteriu (3.1), kaip nurodyta 5.1. Skieskite gautąjį ekstraktą su tetrachlormetanu (3.5) iki 500 ml, sumaišykite. Paimkite 50 ml tirpalo ir supilkite į mažą, sausą, pasvertą kolbą, kurioje yra pemzos gabalėlių [1]. Nudistiliuokite tirpiklį, išdžiovinkite ir toliau atlikite tyrimą taip, kaip nurodyta 5.1 paskutinėje pastraipoje. Pašalinkite tirpiklį iš ekstrahavimo kapsulėje likusio likučio ir sutrinkite likutį 1 mm dalelėmis. Vėl sudėkite produktą į ekstrahavimo kapsulę (nepridėkite dinatrio sulfato), ekstrahuokite dietileteriu ir toliau atlikite tyrimą, kaip nurodyta 5.1 antroje ir trečioje pastraipose.

Rezultatus skaičiuokite mėginio masės procentais, atsižvelgdami į pirmam ekstrahavimui naudotą alikvotinę dalį, pagal šią formulę:

$$(10\,a + b) \times 5$$

**čia:**

a = alikvotinės dalies eterio ekstraktas gramais po pirmo ekstrahavimo,

b = eterio ekstraktas gramais po antrojo ekstrahavimo.

7.2. Tiriant produktus, kuriuose aliejų ir riebalų kiekis nedidelis, mėginio masė gali būti padidinta iki 5 g.

[1] Kai su aliejumi ar riebalais reikia vėliau dar atlikti kokybės bandymus, pemzos trupinius pakeiskite stiklo rutuliukais.