

DIRECTIVA 93/28/CEE DE LA COMISIÓN

de 4 de junio de 1993

que modifica el Anexo I de la tercera Directiva 72/199/CEE por la que se determinan métodos de análisis comunitario para el control oficial de los alimentos para animales

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Vista la Directiva 70/373/CEE del Consejo, de 20 de julio de 1970, relativa a la introducción de métodos para la toma de muestras y métodos de análisis comunitarios para el control oficial de la alimentación animal⁽¹⁾, cuya última modificación la constituye el Acta de adhesión de España y de Portugal⁽²⁾, y, en particular, su artículo 2,

Considerando que la tercera Directiva 72/199/CEE de la Comisión, de 27 de abril de 1972, por la que se determinan métodos de análisis comunitario para el control oficial de los alimentos para animales⁽³⁾, cuya última modificación la constituye la Directiva 84/4/CEE⁽⁴⁾, establece el método que ha de utilizarse para la dosificación de la proteína bruta;

Considerando que es preciso adaptar ese método a la evolución de los conocimientos científicos y técnicos; que conviene tener en cuenta, en particular, las disposiciones de la Directiva 80/1107/CEE del Consejo, de 27 de noviembre de 1980, relativa a la protección de los trabajadores contra los riesgos vinculados a una exposición a agentes químicos, físicos y biológicos durante el trabajo⁽⁵⁾, modificada por la Directiva 88/642/CEE⁽⁶⁾, y, en particular, las medidas adoptadas para prevenir la exposición al mercurio y sus compuestos;

Considerando que, por lo tanto, es necesario suprimir el mercurio y el óxido mercuríco de la lista de los catalizadores que pueden utilizarse en la aplicación del método de determinación de la proteína bruta;

Considerando que las medidas previstas en la presente Directiva se ajustan al dictamen del Comité permanente de la alimentación animal,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

El Anexo I de la Directiva 72/199/CEE se modifica con arreglo al Anexo de la presente Directiva.

Artículo 2

Los Estados miembros aplicarán las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para ajustarse a las disposiciones del artículo 1, a más tardar el 1 de julio de 1994, e informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

Cuando los Estados miembros adopten tales disposiciones, éstas contendrán una referencia a la presente Directiva o irán acompañadas de tal referencia en el momento de su publicación oficial. Las modalidades de esa referencia las adoptarán los Estados miembros.

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 4 de junio de 1993.

Por la Comisión

René STEICHEN

Miembro de la Comisión

(1) DO nº L 170 de 3. 8. 1970, p. 2.

(2) DO nº L 302 de 15. 11. 1985, p. 23.

(3) DO nº L 123 de 29. 5. 1972, p. 6.

(4) DO nº L 15 de 18. 1. 1984, p. 28.

(5) DO nº L 327 de 3. 12. 1980, p. 8.

(6) DO nº L 356 de 24. 12. 1988, p. 74.

ANEXO

La sección 2 del Anexo I, « Determinación de la proteína bruta », se sustituirá por el siguiente texto :

2. DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA BRUTA**1. Objetivo y campo de aplicación**

Este método permite determinar el contenido en proteínas brutas de los piensos a partir del contenido en nitrógeno, determinado según el método de Kjeldahl.

2. Principio

La muestra se mineraliza con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador. La solución ácida se alcaliniza mediante una solución de hidróxido de sodio. El amoníaco es destilado y recogido en una cantidad medida de ácido sulfúrico, cuyo exceso es titulado por una solución valorada de hidróxido de sodio.

3. Reactivos

- 3.1. Sulfato potásico
- 3.2. Catalizador: óxido cúprico CuO o sulfato cúprico cristalizado pentahidratado $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 3.3. Zinc granulado
- 3.4. Ácido sulfúrico $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$
- 3.5. Ácido sulfúrico $C(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,5 \text{ mol/l}$
- 3.6. Ácido sulfúrico $C(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$
- 3.7. Indicador de rojo de metilo: disolver 300 mg de rojo de metilo en 100 ml de etanol, $\sigma = 95-96 \%$ (v/v)
- 3.8. Solución de hidróxido de sodio (puede utilizarse el grado técnico) $\delta = 40 \text{ g/100 ml}$ (m/v: 40 %)
- 3.9. Solución de hidróxido de sodio $c = 0,25 \text{ mol/l}$
- 3.10. Solución de hidróxido de sodio $c = 0,1 \text{ mol/l}$
- 3.11. Piedra pómez en gránulos, lavada con ácido clorhídrico y calcinada
- 3.12. Acetanilida (punto de fusión = 114°C , N = 10,36 %)
- 3.13. Sacarosa (libre de compuestos nitrogenados)

4. Equipo

Aparatos adecuados para mineralizar, destilar y titular según el procedimiento de Kjeldahl

5. Método operatorio**5.1. Mineralización**

Pesar 1 g de muestra con una precisión de 0,001 g y transferir dicha cantidad al matraz del apartado mineralizador. Añadir 15 g de sulfato de potasio (3.1), una cantidad apropiada de catalizador (3.2) (0,3 a 0,4 g de óxido cúprico o 0,9 a 1,2 g de sulfato cúprico pentahidratado), 25 ml de ácido sulfúrico (3.4) y algunos gránulos de piedra pómez (3.11). Homogeneizar. Calentar el matraz primero con moderación y agitando de vez en cuando, si es necesario, hasta la carbonización de la masa y la desaparición de la espuma; después, más intensamente hasta la ebullición regular del líquido. El calentamiento es adecuado cuando el ácido en ebullición se condensa en las paredes del matraz. Evitar el recalentamiento de las paredes y la adhesión sobre ellas de partículas orgánicas. Cuando la solución se vuelva transparente de color verde claro, mantener la ebullición durante otras dos horas. Después dejar enfriar.

5.2. Destilación

Añadir con precaución agua suficiente para disolver completamente los sulfatos. Dejar enfriar y añadir a continuación algunos gránulos de zinc (3.3).

Introducir en el matraz colector del apartado destilador 25 ml, medidos con exactitud, de ácido sulfúrico (3.5 o 3.6) según el contenido supuesto de nitrógeno y algunas gotas del indicador de rojo de metilo (3.7).

Conectar el matraz de mineralización al refrigerante del aparato destilador y sumergir la extremidad del refrigerante en el líquido del matraz colector a una profundidad mínima de 1 cm (véase la observación 8.3). Introducir lentamente en el matraz de digestión 100 ml de solución de hidróxido de sodio (3.8) si pérdida de amoníaco (8.1).

Calentar el matraz hasta la destilación completa del amoníaco.

5.3. Titulación

Titular el exceso de ácido sulfúrico del frasco colector mediante la solución de hidróxido de sodio (3.9 o 3.10), según la concentración del ácido sulfúrico utilizado, hasta alcanzar el punto final.

5.4. Prueba en blanco

Para confirmar que los reactivos están exentos de nitrógeno, efectuar una prueba en blanco (mineralización, destilación y titulación) utilizando 1 g de sacarosa (3.13) en lugar de la muestra.

6. Cálculo de los resultados

El contenido en proteína bruta se calcula con arreglo a la siguiente fórmula:

$$\frac{(V_0 - V_1) \times c \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{m}$$

Donde:

V_0 = volumen (ml) de NaOH (3.9 o 3.10) utilizado en la prueba en blanco

V_1 = volumen (ml) de NaOH (3.9 o 3.10) utilizados en la titulación de la muestra

c = concentración (mol/l) de hidróxido de sodio (3.9 o 3.10)

m = masa (g) de la muestra

7. Comprobación del método**7.1. Repetibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas con una misma muestra no debe sobrepasar:

— 0,2 % en valor absoluto, para los contenidos en proteína bruta inferiores al 20 %,

— 1,0 % en valor relativo sobre el valor más alto, para los contenidos en proteína entre el 20 % y el 40 %,

— 0,4 % en valor absoluto, para los contenidos superiores al 40 %.

7.2. Exactitud

Efectuar el análisis (mineralización, destilación y titulación) en 1,5 a 2,0 g de acetanilida (3.12) en presencia de 1 g de sacarosa (3.13); 1 g de acetanilida consume 14,80 ml de ácido sulfúrico (3.5). La recuperación debe ser del 99 %, como mínimo.

8. Observaciones

8.1. El aparato puede ser manual, semiautomático o automático. Si el aparato exige un trasvase entre mineralización y destilación, dicho trasvase debe realizarse sin pérdida. Si el matraz del aparato de destilación no está provisto de un embudo con llave, añadir la solución de hidróxido de sodio inmediatamente antes de conectar el matraz al refrigerante, dejando deslizar el líquido lentamente por las paredes.

8.2. Si el producto de la mineralización se solidifica, empezar de nuevo la determinación utilizando una cantidad de ácido sulfúrico (3.4) mayor que la especificada más arriba.

8.3. Para los productos con un contenido bajo de nitrógeno, el volumen de ácido sulfúrico (3.6) que ha de introducirse en el frasco colector podrá reducirse, si fuera necesario, a 10 o 15 ml y completarse con agua hasta 25 ml.