

**DIRETTIVA 93/28/CEE DELLA COMMISSIONE**

del 4 giugno 1993

**che modifica l'allegato I della terza direttiva 72/199/CEE che fissa i metodi d'analisi comunitari per i controlli degli alimenti per gli animali**

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il Trattato che istituisce la Comunità economica europea,

vista la direttiva 70/373/CEE del Consiglio, del 20 luglio 1970, relativa all'introduzione di modi di prelievo di campioni e di metodi di analisi comunitari per il controllo ufficiale degli alimenti per animali<sup>(1)</sup>, modificata da ultimo dall'atto d'adesione della Spagna e del Portogallo<sup>(2)</sup>, in particolare l'articolo 2,considerando che la terza direttiva 72/199/CEE della Commissione, del 27 aprile 1972, che fissa i metodi d'analisi comunitari per i controlli degli alimenti per gli animali<sup>(3)</sup>, modificato da ultimo dalla direttiva 84/4/CEE<sup>(4)</sup>, prescrive il metodo da usare per la determinazione delle proteine gregge;considerando che è necessario adeguare questo metodo all'evoluzione delle conoscenze scientifiche e tecniche; che, in particolare, è opportuno tener conto delle disposizioni della direttiva 80/1107/CEE del Consiglio, del 27 novembre 1980, sulla protezione dei lavoratori contro i rischi derivanti da un'esposizione ad agenti chimici, fisici e biologici durante il lavoro<sup>(5)</sup>, modificato dalla direttiva 88/642/CEE<sup>(6)</sup>, e in particolare dei provvedimenti presi per prevenire l'esposizione al mercurio e ai suoi componenti;

considerando che è pertanto necessario sopprimere il mercurio e l'ossido mercurico dall'elenco dei catalizzatori che possono essere impiegati applicando il metodo per la determinazione delle proteine gregge;

considerando che le misure previste nella presente direttiva sono conformi al parere del comitato permanente degli alimenti per animali,

HA ADOTTATO LA PRESENTE DIRETTIVA:

*Articolo 1*

L'allegato I della direttiva 72/199/CEE è modificato conformemente all'allegato della presente direttiva.

*Articolo 2*

Gli Stati membri mettono in vigore le disposizioni legislative, regolamentari e amministrative necessarie per conformarsi alle disposizioni dell'articolo 1 entro il 1° luglio 1994 al più tardi. Essi ne informano immediatamente la Commissione.

Quando gli Stati membri adottano tali disposizioni, queste contengono un riferimento alla presente direttiva o sono corredate di un siffatto riferimento all'atto della pubblicazione ufficiale. La modalità di tale riferimento sono decise dagli Stati membri.

*Articolo 3*

Gli Stati membri sono destinatari della presente direttiva.

Fatto a Bruxelles, il 4 giugno 1993.

*Per la Commissione*

René STEICHEN

*Membro della Commissione*<sup>(1)</sup> GU n. L 170 del 3. 8. 1970, pag. 2.<sup>(2)</sup> GU n. L 302 del 15. 11. 1985, pag. 23.<sup>(3)</sup> GU n. L 123 del 29. 5. 1972, pag. 6.<sup>(4)</sup> GU n. L 15 del 18. 1. 1984, pag. 28.<sup>(5)</sup> GU n. L 327 del 3. 12. 1980, pag. 8.<sup>(6)</sup> GU n. L 356 del 24. 12. 1988, pag. 74.

## ALLEGATO

Il testo dell'allegato I, punto 2 « DETERMINAZIONE DELLE PROTEINE GREGGE » è sostituito dal testo seguente.

**2. DETERMINAZIONE DELLE PROTEINE GREGGE****1. Scopo e campo d'applicazione**

Il metodo permette di determinare il contenuto in proteine gregge dei mangimi a partire dal contenuto in azoto, dosato secondo Kjeldahl.

**2. Principio**

Il campione viene digerito in acido solforico in presenza di un catalizzatore. La soluzione acida viene alcalinizzata con una soluzione d'idrossido di sodio. L'ammoniaca liberatasi viene isolata per distillazione e viene raccolta in una quantità determinata di acido solforico, il cui eccesso è titolato con una soluzione standard d'idrossido di sodio.

**3. Reattivi**

3.1. Sulfato di potassio

3.2. Catalizzatore: ossido rameico  $\text{CuO}$  p.a., o solfato di rame (II) pentaidrato,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

3.3. Zinco in granelli

3.4. Acido solforico  $\rho_{20} = 1.84$  g/ml

3.5. Acido solforico  $c(\frac{1}{2}\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,5$  mol/l

3.6. Acido solforico  $c(\frac{1}{2}\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1$  mol/l

3.7. Indicatore al rosso di metile: sciogliere mg 300 di rosso di metile in ml 100 di etanolo,  $\sigma = 95-96$  % (v/v)

3.8. Soluzione d'idrossido di sodio (è possibile usare quello di purezza tecnica),  $\phi = 40$  g/100 ml (m/v: 40 %)

3.9. Soluzione d'idrossido di sodio  $c = 0,25$  mol/l

3.10. Soluzione d'idrossido di sodio  $c = 0,1$  mol/l

3.11. Pietra pomice in granelli, lavata con acido cloridrico e calcinata

3.12. Acetanilide (p.m. = 114 °C, N = 10,36 %)

3.13. Saccarosio (esente da azoto)

**4. Apparecchiatura**

Apparecchi di mineralizzazione, distillazione e titolazione secondo il metodo di Kjeldahl

**5. Metodo di operare****5.1. Mineralizzazione**

Pesare, con l'approssimazione di 1 mg, 1 g del campione e introdurlo nel pallone dell'apparecchio di mineralizzazione. Aggiungere g 15 di solfato di potassio (3.1), una quantità appropriata di catalizzatore (3.2) [da g 0,3 a g 0,4 di ossido rameico, oppure da g 0,9 a g 1,2 di solfato di rame (II) pentaidrato], ml 25 di acido solforico (3.4) e qualche granello di pietra pomice (3.11). Mescolare. Riscaldare il pallone prima moderatamente, agitando di tanto in tanto, se necessario, fino a carbonizzazione della massa ed a scomparsa della schiuma; quindi più intensamente sino a ebollizione regolare del liquido. Il riscaldamento è adeguato se l'acido bollendo si condensa sulle pareti del pallone. Evitare che le pareti si surriscaldino e che particelle organiche vi aderiscano. Quando la soluzione diventa limpida e di colore verde pallido prolungare l'ebollizione ancora per due ore. Lasciar quindi raffreddare.

**5.2. Distillazione**

Aggiungere con precauzione un quantitativo d'acqua sufficiente a sciogliere completamente i solfati; lasciar raffreddare. Aggiungere quindi qualche granello di zinco (3.3).

Introdurre nel matraccio collettore dell'apparecchio di distillazione ml 25 esattamente misurati di acido solforico (3.5) oppure (3.6) a seconda del contenuto di azoto che si presume e qualche goccia di indicatore al rosso di metile (3.7).

Collocare il pallone al condensatore dell'apparecchio di distillazione ed immergere l'estremità di quest'ultimo per almeno cm 1 nel liquido del matraccio collettore (cfr. osservazione 8.3). Versare lentamente nel pallone ml 100 di soluzione di idrossido di sodio (3.8) senza perdita di ammoniaca (cfr. osservazione 8.1).

Scaldare il pallone fino a distillazione completa dell'ammoniaca.

**5.3. Titolazione**

Titolare nel matraccio collettore l'eccesso di acido solforico per mezzo di una soluzione di idrossido di sodio (3.9) o (3.10), secondo la concentrazione dell'acido solforico utilizzato, sino a raggiungimento del punto finale.

**5.4. Prova in bianco**

Per controllare se i reattivi sono esenti da azoto, effettuare una prova in bianco (mineralizzazione, distillazione e titolazione) usando g 1 di saccarosio (3.13) invece del campione.

**6. Calcolo dei risultati**

Calcolare il tenore di proteine gregge con la formula seguente :

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

dove :

$V_0$  = volume di NaOH (3.9 o 3.10) usato nella prova in bianco

$V_1$  = volume (ml) di NaOH (3.9 o 3.10) usato nella titolazione del campione

$c$  = concentrazione (mol/l) di idrossido di sodio (3.9 o 3.10)

$m$  = massa (g) del campione

**7. Verifica del metodo****7.1. Ripetibilità**

La differenza tra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve oltrepassare :

- 0,2 % in valore assoluto, per contenuti in proteine gregge inferiore al 20 %
- 1,0 % sul risultato più elevato, contenuti compresi tra 20 e 40 %
- 0,4 % in valore assoluto, per contenuti superiori al 40 %.

**7.2. Accuratezza**

Eeguire l'analisi (mineralizzazione, distillazione e titolazione) su 1,5–2,0 g di acetanilide (3.12) in presenza di g 1 di saccarosio (3.13) : g 1 di acetanilide consuma 14,80 ml di acido solforico (3.5). Il recupero deve essere di almeno il 99 %.

**8. Osservazioni**

- 8.1. Gli apparecchi possono essere del tipo manuale, semiautomatico od automatico. Se un apparecchio richiede un travasamento tra mineralizzazione e distillazione, in questo caso il travasamento deve essere effettuato senza perdite. Se il pallone dell'apparecchio di distillazione non è provvisto di un imbuto separatore, aggiungere la soluzione d'idrossido di sodio immediatamente prima di collegare il pallone al refrigerante, lasciando colare lentamente il liquido lungo le pareti.
- 8.2. Se il prodotto mineralizzato si solidifica, ricominciare la determinazione usando un quantitativo di acido solforico (3.4) superiore a quello specificato in precedenza.
- 8.3. Per i prodotti poveri di sostanze azotate, il volume di acido solforico (3.6) da introdurre nel matraccio può essere ridotto, se necessario, a ml 10 o 15 e portato a ml 25 con acqua.