

DECRETO 12 aprile 1994.

Approvazione dei «Metodi di analisi per il controllo ufficiale degli alimenti per animali - Supplemento n. 10».

**MINISTERO DELLE RISORSE
AGRICOLE, ALIMENTARI E FORESTALI
ISPettorato CENTRALE REPRESSIONE FRODI**

DI CONCERTO CON

IL MINISTERO DELLE FINANZE, IL MINISTERO DELLA SANITÀ E IL
MINISTERO DELL'INDUSTRIA, DEL COMMERCIO E DELL'ARTI-
GIANATO

Visto il decreto legislativo 3 febbraio 1993, n. 29, concernente norme per la razionalizzazione dell'organizzazione delle amministrazioni pubbliche e revisione della disciplina in materia di pubblico impiego, a norma dell'art. 2 della legge 23 ottobre 1992, n. 421;

Visti l'art. 43 del regio decreto-legge 15 ottobre 1925, n. 2033, convertito nella legge 18 marzo 1926, n. 562, riguardante la repressione delle frodi nella preparazione e nel commercio di sostanze di uso agrario e di prodotti agrari, e l'art. 108 del regolamento per l'esecuzione dello stesso regio decreto-legge, approvato con regio decreto 1° luglio 1926, n. 1361, i quali prescrivono che le analisi occorrenti in applicazione delle norme contenute nel regio decreto-legge e nel regolamento di esecuzione suddetti dovranno essere eseguite dai laboratori incaricati con i metodi di analisi prescritti da questo Ministero, di concerto con il Ministero delle finanze, il Ministero della sanità ed il Ministero dell'industria, del commercio e dell'artigianato;

Vista la direttiva 93/70/CEE della Commissione del 28 luglio 1993, pubblicata nella «Gazzetta Ufficiale» delle Comunità europee n. L 234 del 17 settembre 1993, che fissa il metodo di analisi per il dosaggio dell'alofuginone negli alimenti per gli animali;

Vista la direttiva 93/28/CEE della Commissione del 4 giugno 1993, pubblicata nella «Gazzetta Ufficiale» delle Comunità europee n. L 179 del 22 luglio 1993, che modifica l'allegato I della terza direttiva 72/199/CEE relativamente al metodo per la determinazione delle proteine gregge negli alimenti per gli animali;

Visto il decreto ministeriale 9 novembre 1971, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 308 del 6 dicembre 1971, con il quale sono stati approvati i «Metodi ufficiali di analisi degli alimenti per uso zootecnico», modificato ed integrato da ultimo con decreto ministeriale 22 luglio 1985 - Supplemento n. 8;

Ritenuto necessario adottare le opportune disposizioni per conformare le norme nazionali a quelle delle predette direttive comunitarie;

Sentito il parere della commissione per l'aggiornamento periodico dei metodi ufficiali di analisi per i prodotti agrari e le sostanze di uso agrario - sottocommissione per i mangimi — di cui al decreto ministeriale 11 febbraio 1981, e successive modificazioni;

Visto l'art. 2 della legge 4 dicembre 1993, n. 491, che istituisce il Ministero delle risorse agricole, alimentari e forestali;

Decreta:

Art. 1.

1. Sono approvati i «Metodi di analisi per il controllo ufficiale degli alimenti per animali» descritti nel supplemento n. 10, allegato al presente decreto.

Art. 2.

1. Il metodo «Determinazione delle proteine gregge» descritto nei «Metodi ufficiali di analisi degli alimenti per uso zootecnico - Supplemento n. 2» di cui al decreto ministeriale 18 luglio 1975, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 214 del 12 agosto 1975, è sostituito dal corrispondente metodo «Determinazione delle proteine gregge» descritto nell'allegato al presente decreto.

Art. 3.

1. Il presente decreto entra in vigore il giorno successivo alla sua pubblicazione nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

2. Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, 12 aprile 1994

L'ispettore generale capo per la repressione delle frodi
GRIMALDI

*Il direttore centrale del dipartimento delle dogane
e delle imposte indirette*
FAVALE

Il direttore generale dei servizi veterinari
MARABELLI

Il direttore generale della produzione industriale
AMMASSARI

ALLEGATO

METODI DI ANALISI PER IL CONTROLLO UFFICIALE
DEGLI ALIMENTI PER ANIMALI - SUPPLEMENTO N. 10

Determinazione dell'alofuginone.

Determinazione delle proteine gregge.

DETERMINAZIONE DELL'ALOFUGINONE

DL-trans-7-bromo-6-cloro-3-[3-(3-idrossi-2-piperidil) acetoni]l-chinazolin-4-(3H)-one bromidrato

1. Scopo e campo d'applicazione

Il metodo serve a determinare l'alofuginone nei mangimi. Il limite minimo di determinazione è di 1 mg/kg.

2. Principio

Dopo aver trattato il campione con acqua calda, l'alofuginone viene estratto come base libera in acetato di etile e successivamente ripartito come cloridrato in soluzione acquosa acida. L'estratto viene purificato mediante cromatografia a scambio ionico. Il tenore di alofuginone viene determinato mediante cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) su base inversa, usando un rivelatore UV.

3. Reattivi

3.1. Acetonitrile per HPLC

3.2. Resina amberlite XAD-2

3.3. Acetato di ammonio

3.4. Acetato di etile

3.5. Acido acetico glaciale

3.6. Alofuginone sostanza standard (DL-trans-7-bromo-6-cloro-3-[3-(3-idrossi-2-piperidil)acetoni]l-chinazolin-4-(3H)-one bromidrato, E 764)

3.6.1. Alofuginone, soluzione madre standard, 100 µg/ml

Pesare con l'approssimazione di 0,1 mg 50 mg di alofuginone (3.6) in un pallone graduato da 500 ml, sciogliere in soluzione tampone di acetato ammonico (3.18), portare a volume con soluzione tampone ed agitare. Questa soluzione è stabile per tre settimane a + 5 °C, se conservata al buio.

3.6.2. Soluzioni di taratura

In una serie di palloni graduati da 100 ml trasferire 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 6,0 ml della soluzione madre standard (3.6.1). Portare a volume con la fase mobile (3.21) ed agitare. Queste soluzioni hanno concentrazioni rispettivamente di 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 6,0 µg/ml di alofuginone. Queste soluzioni devono essere preparate al momento dell'uso.

3.7. Acido cloridrico (ρ_{20} ca. 1,16 g/ml).

3.8. Metanolo

3.9. Nitrato di argento

3.10. Ascorbato di sodio

3.11. Carbonato di sodio

3.12. Cloruro di sodio

3.13. EDTA (acido etilendiamminotetracetico, sale bisodico)

3.14. Acqua per HPLC

3.15. Soluzione di carbonato di sodio, 10 g/100 ml

3.16. Soluzione di carbonato di sodio saturata con cloruro di sodio 5 g/100 ml

Sciogliere 50 g di carbonato di sodio (3.11) in acqua, portare a 1 l ed aggiungere cloruro di sodio (3.12) fino a saturazione.

3.17. Acido cloridrico, circa 0,1 mol/l

Portare 10 ml di HCl (3.7) con acqua a 1 l.

3.18. Soluzione tampone di acetato di ammonio, circa 0,25 mol/l

Sciogliere 19,5 g di acetato di ammonio (3.3) e 30 ml di acido acetico (3.5) in acqua (3.14) e portare a 1 l.

3.19. Preparazione della resina amberlite XAD-2

Sciacquare un quantitativo opportuno di amberlite (3.2) con acqua fino a eliminazione completa di tutti gli ioni cloruro, eliminazione che viene verificata eseguendo una prova al nitrato di argento (3.20) sulla fase acquosa che è stata messa da parte. Sciacquare quindi la resina con 50 ml di metanolo (3.8), eliminare il metanolo e conservare la resina in metanolo fresco.

3.20. Soluzione di nitrato di argento, circa 0,1 mol/l

Sciogliere 0,17 g di nitrato di argento (3.9) in 10 ml di acqua.

3.21. Fase mobile per HPLC

Mescolare 500 ml di acetonitrile (3.1), 300 ml di soluzione tampone di acetato ammonico (3.18) e 1 200 ml di acqua (3.14). Regolare il pH a 4,3 con acido acetico (3.5). Far passare la soluzione attraverso un filtro di 0,22 µm (4.8) e degassarla (ad es., sottoponendola per 10 minuti a trattamento con ultrasuoni). Questa soluzione è stabile per un mese se conservata al buio in un contenitore chiuso.

4. Apparecchiature**4.1. Bagno ad ultrasuoni****4.2. Evaporatore rotante a film****4.3. Centrifuga****4.4. Apparecchiatura per HPLC con rivelatore a ultravioletti a lunghezza d'onda variabile oppure con rivelatore a serie di diodi****4.4.1. Colonna per cromatografia liquida, 300 mm × 4 mm, C 18, con riempimento da 10 µm o colonna equivalente****4.5. Colonna di vetro (300 mm × 10 mm) provvista di filtro in vetro e di rubinetto di arresto****4.6. Filtri in fibra di vetro, diametro 150 mm****4.7. Filtri a membrana, 0,45 µm****4.8. Filtri a membrana, 0,22 µm****5. Procedimento**

Nota: L'alofuginone come base libera è instabile in soluzione alcalina e in soluzione di acetato di etile. Non deve restare in acetato di etile per oltre 30 minuti.

5.1. Generalità**5.1.1. Analizzare un campione di mangime in bianco, per accertare l'assenza dell'alofuginone o di altre sostanze capaci di interferire.****5.1.2. Procedere a una prova di recupero, analizzando un campione del mangime in bianco rinforzato con una quantità di alofuginone simile a quella presente nel campione.**

Per rinforzare al livello di 3 mg/kg, aggiungere 300 µl della soluzione di riserva standard (3.6.1) a 10 g del mangime in bianco, mescolare e attendere 10 minuti prima di procedere all'estrazione (5.2).

Nota: Ai fini del presente metodo, il mangime in bianco deve avere una composizione simile a quella del campione, ed all'analisi l'alofuginone non deve risultare presente.

5.2. Estrazione

Pesare 10 g del campione preparato, con l'approssimazione di 0,01 g, in una provetta da centrifuga da 200 ml, aggiungere 0,5 g di ascorbato sodico (3.10), 0,5 g di EDTA (3.13) e 20 ml di acqua e agitare. Immergere la provetta in bagnomaria (80 °C) per 5 minuti. Dopo aver fatto raffreddare a temperatura ambiente, aggiungere 20 ml di soluzione di carbonato di sodio (3.15) ed agitare. Aggiungere immediatamente 100 ml di acetato di etile (3.4) ed agitare vigorosamente a mano per 15 secondi. Introdurre quindi la provetta nel bagno ultrasonico (4.1) per 3 minuti ed allentare il tappo. Centrifugare per 2 minuti e decantare la fase di acetato etilico, attraverso un filtro in fibra di vetro (4.6), in un imbuto separatore da 500 ml. Ripetere l'estrazione del campione con una seconda porzione di 100 ml di acetato di etile. Lavare gli estratti combinati, per un minuto, con 50 ml di soluzione di carbonato di sodio saturata con cloruro di sodio (3.16) ed eliminare lo strato acquoso.

Estrarre lo strato organico, per un minuto, con 50 ml di acido cloridrico (3.17). Raccogliere lo strato acido inferiore in un imbuto separatore da 250 ml. Riestrarre lo strato organico per 1,5 minuti con altri 50 ml di acido cloridrico e aggiungere al primo estratto. Lavare gli estratti acidi combinati agitando per 10 secondi con 10 ml di acetato di etile (3.4).

Trasferire quantitativamente lo strato acquoso in un pallone da 250 ml ed eliminare la fase organica. Far evaporare tutto l'acetato di etile rimanente dalla soluzione acida mediante un evaporatore rotante a film (4.2). La temperatura del bagnomaria non deve superare i 40 °C. Con un vuoto di circa 25 mbar tutto l'acetato di etile residuo viene rimosso entro 5 minuti a 38 °C.

5.3. Purificazione

5.3.1. Preparazione della colonna di amberlite

Per ciascun estratto di campione viene preparata una colonna XAD-2. Mediante metanolo (3.8) trasferire in una colonna di vetro (4.5) 10 g di amberlite preparata (3.19). Aggiungere un piccolo tappo di lana di vetro alla sommità del letto della resina. Drenare il metanolo dalla colonna e lavare la resina con 100 ml d'acqua, fermando il flusso quando il liquido raggiunge la sommità del letto della resina. Far equilibrare la colonna per 10 minuti prima dell'uso. Evitare comunque che la colonna si essicchi.

5.3.2. Purificazione del campione

Trasferire quantitativamente l'estratto (5.2) sulla sommità della colonna di amberlite preparata (5.3.1) ed eluire, scartando l'eluato. Il tasso di eluizione non deve superare 20 ml/min. Riprendere il pallone con 20 ml di acido cloridrico (3.17) ed usare quest'ultimo liquido per lavare la colonna di resina. Eliminare eventuali residui di soluzione acida insufflando aria. Eliminare i liquidi di lavaggio. Aggiungere 100 ml di metanolo (3.8) alla colonna e lasciar eluire per 5-10 minuti, raccogliendo l'eluato in un pallone da 250 ml. Lasciar equilibrare per 10 minuti il metanolo residuo con la resina e continuare l'eluizione con un flusso non superiore a 20 ml/min, raccogliendo l'eluato nello stesso pallone. Evaporare il metanolo sull'evaporatore rotante a film (4.2); la temperatura del bagnomaria non deve superare i 40 °C. Trasferire quantitativamente il residuo in un pallone graduato da 10 ml usando la fase mobile (3.21). Portare a volume con la fase mobile ed agitare. Far passare un'aliquota attraverso un filtro a membrana (4.7). Riservare questa soluzione, per la determinazione mediante HPLC (5.4).

5.4. Determinazione mediante HPLC

5.4.1. Parametri

I parametri qui riportati sono di riferimento. Possono essere tuttavia utilizzate altre condizioni cromatografiche in grado di dare risultati equivalenti.

Colonna di cromatografia liquida (4.4.1)

Fase mobile per HPLC (3.21)

Velocità flusso: 1,5 — 2 ml/min.

Lunghezza d'onda di rivelazione: 243 nm

Volume iniettato: 40 — 100 µl

Verificare la stabilità del sistema cromatografico iniettando parecchie volte la soluzione titolata (3.6.2) contenente 3,0 µg/ml fino a ottenimento di altezze di picco e tempi di ritenzione costanti.

5.4.2. Curva di taratura

Iniettare ciascuna soluzione di taratura (3.6.2) parecchie volte e misurare le altezze (aree) dei picchi per ciascuna concentrazione. Calcolare una curva di taratura riportando l'altezza media dei picchi o area delle soluzioni di taratura sulle ordinate e le corrispondenti concentrazioni in µg/ml sulle ascisse.

5.4.3. Soluzione di campione

Iniettare parecchie volte l'estratto di campione (5.3.2) usando lo stesso volume usato per le soluzioni di taratura e determinare l'altezza media (area) dei picchi di alofuginone.

6. Calcolo dei risultati

Dall'altezza media (area) dei picchi di alofuginone della soluzione di campione dedurre la concentrazione della soluzione di campione in µg/ml basandosi sulla curva di taratura (5.4.2).

Il contenuto di alofuginone w (mg/kg) del campione è dato dalla formula seguente: -

$$w = \frac{c \times 10}{m}$$

dove:

— c : concentrazione di alofuginone della soluzione di campione in µg/ml.

— m : massa della quantità di sostanza da analizzare, in grammi.

7. Convalida dei risultati

7.1. Identità

L'identità dell'analita può essere confermata mediante co-cromatografia oppure usando un rivelatore a serie di diodi in cui vengono confrontati gli spettri dell'estratto di campione e della soluzione di taratura (3.6.2) contenente 6,0 µg/ml.

7.1.1. Co-cromatografia

Un estratto di campione viene « rinforzato » mediante aggiunta di un quantitativo adeguato di soluzione di taratura (3.6.2). Il quantitativo di alofuginone aggiunto deve essere analogo a quello stimato di alofuginone trovato nell'estratto di campione.

Solo l'altezza del picco di alofuginone dovrebbe essere aumentata aggiungendo un quantitativo opportuno dopo aver tenuto conto sia della quantità di alofuginone aggiunta che della diluizione dell'estratto. La ampiezza del picco, a metà della sua altezza massima, deve rientrare nel $\pm 10\%$ dell'ampiezza originale.

7.1.2. Rivelazione a serie di diodi

I risultati sono valutati con i seguenti criteri:

- le lunghezze d'onda massime di assorbimento degli spettri relativi al campione ed allo standard, registrate all'apice del picco, devono essere le stesse entro un margine determinato dal potere di risoluzione del sistema di rivelazione. Per la rivelazione a serie di diodi, esso si situa tipicamente entro ± 2 nm;
- tra 225 e 300 nm, gli spettri relativi al campione ed allo standard registrati all'apice del picco cromatografico, non devono essere differenti per le parti dello spettro comprese tra il 10 e il 100 % dell'assorbanza relativa. Questo criterio viene rispettato quando sono presenti gli stessi massimi e quando in nessun punto che viene osservato la deviazione tra i due spettri supera il 15 % dell'assorbanza dell'analita standard;
- tra 225 e 300 nm, gli spettri relativi al campione, registrati nel tratto ascendente, all'apice, nel tratto discendente del picco cromatografico, non devono essere differenti per quelle parti dello spettro comprese tra il 10 ed il 100 % dell'assorbanza relativa. Questo criterio viene soddisfatto quando sono presenti gli stessi massimi e quando in nessun punto che viene osservato la deviazione tra gli spettri supera il 15 % dell'assorbanza di spettro dell'apice.

Se uno di questi criteri non viene soddisfatto, la presenza dell'analita non è confermata.

7.2. Ripetibilità

La differenza tra i risultati di due determinazioni parallele effettuate sullo stesso campione non deve superare 0,5 mg/kg per contenuti di alofuginone fino ad un massimo di 3 mg/kg.

7.3. Recupero

Per il campione in bianco rinforzato il recupero deve essere di almeno 80 %.

8. Risultati di uno studio effettuato in cooperazione

È stato organizzato uno studio in cooperazione⁽¹⁾ in cui tre campioni sono stati analizzati da otto laboratori.

Risultati

	Campione A (bianco) appena ricevuto	Campione B (stannato)		Campione C (pellet)	
		appena ricevuto	dopo due mesi	appena ricevuto	dopo due mesi
Media ⁽¹⁾	n.d.	2,80	2,42	2,89	2,45
S _p	—	0,45	0,43	0,40	0,42
CV _p	—	16	18	14	17
rec.		86	74	88	75

(¹): unità in mg/kg.

n.d.: non rivelato.

S_p: deviazione standard della riproducibilità.

CV_p: coefficiente di variazione (%).

rec.: recupero (%).

(¹) The Analyst 1983, 108, 1252-1256.

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. Solfato di potassio
- 3.2. Catalizzatore: ossido rameico 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 0,5 mol/l
- 3.6. Acido solforico 0,1 mol/l
- 3.7. Indicatore al rosso di metile: sciogliere mg 300 di rosso di metile in ml 100 di etanolo, al 95-96% (v/v)
- 3.8. Soluzione d'idrossido di sodio (è possibile usare quello di purezza tecnica), 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.F. = 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 restivi 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*

Eseguire 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.

L'ispettore generale capo per la repressione delle frodi

GRIMALDI

94A2601