



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITÀ E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

Decreto n.7276 del 31 maggio 2016

Approvazione dei Metodi ufficiali di analisi per i fertilizzanti – Supplemento n. 13

IL DIRETTORE GENERALE

VISTO il Decreto Legge 18 giugno 1986, n.282 convertito, con modificazioni, nella Legge 7 agosto 1986, n.462, che all'articolo 10 ha previsto l'istituzione dell'Ispettorato centrale repressione frodi presso il Ministero dell'Agricoltura e Foreste per l'esercizio, tra l'altro, delle funzioni inerenti alla prevenzione e repressione delle infrazioni nella preparazione e nel commercio dei prodotti agroalimentari e delle sostanze di uso agrario e forestale

VISTO il decreto legislativo 30 marzo 2001, n. 165, e successive modificazioni;

VISTO il Decreto Ministeriale 5 maggio 2006 del Ministro delle politiche agricole e forestali *pro-tempore* concernente a norma dell'art. 44 della legge 20 febbraio 2006, n. 82, l'istituzione della Commissione consultiva per l'aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi dei prodotti agroalimentari e delle sostanze di uso agrario e forestale, articolata in dieci sottocommissioni con competenze settoriali, tra cui la sottocommissione fertilizzanti ed affini istituita e nominata con decreto ministeriale 19 dicembre 2008 n. 1793 e successivamente modificata nella composizione;

VISTA la Direttiva del Presidente del Consiglio dei Ministri 4 agosto 2010, Indirizzi interpretativi in materia di riordino degli organismi collegiali e di riduzione dei costi degli apparati amministrativi che ha disposto l'operatività, in regime di proroga, della citata Commissione consultiva e delle relative sottocommissioni fino al trascorso 28 giugno 2012 ;

VISTO l'articolo 6 del Decreto legislativo 29 aprile 2010, n. 75, concernente il "Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88", il quale prescrive che l'osservanza delle disposizioni per quanto concerne la conformità rispetto ai tipi di fertilizzanti e l'osservanza dei titoli dichiarati di elementi fertilizzanti o dei titoli dichiarati delle forme e delle solubilità di tali elementi è accertata, all'atto dei controlli ufficiali, con i metodi di campionamento ed analisi adottati con decreto del Ministro delle Politiche agricole alimentari e forestali, sentito il parere della Commissione consultiva di cui all'articolo 44 della legge 20 febbraio 2006, n.82;

VISTO il decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri 27 febbraio 2013, n. 105, regolamento recante "Organizzazione del Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali", che all'art. 4 ha previsto per l'Ispettorato centrale l'attuale denominazione di "Dipartimento dell'Ispettorato centrale della tutela della qualità e della repressione frodi dei prodotti agroalimentari" con acronimo ICQRF, riconfermando, tra le competenze allo stesso demandate, le funzioni in materia di aggiornamento delle metodiche ufficiali di analisi dei prodotti agroalimentari e delle sostanze di uso agrario e forestali;



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

VISTO il decreto ministeriale 24 marzo 1986, relativo all'approvazione dei "Metodi ufficiali di analisi per i fertilizzanti", pubblicato nel Supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 180 del 5 agosto 1986, modificato ed integrato da ultimo con il decreto n. 1377 del 27 gennaio 2014 -Supplemento n. 12 - pubblicato sul sito Istituzionale del Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali;

RITENUTO necessario integrare la raccolta dei metodi di analisi con metodiche analitiche idonee al controllo dei fertilizzanti nazionali già inseriti o con richiesta di inserimento negli allegati del Decreto legislativo 29 aprile 2010, n. 75 e successive modificazioni ed integrazioni;

CONSIDERATO che i metodi valutati per la "Determinazione del rapporto isotopico dello Zolfo ($^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$)", la "Determinazione del contenuto di carbonio totale di origine biologica e di idrogeno totale" e l'"Analisi NMR di fanghi industriali e urbani" sono idonei all'applicazione in termini di precisione ed accuratezza, in conformità alle linee guida per la redazione dei metodi di prova approvate dalla Commissione consultiva di cui all'articolo 44 della legge 20 febbraio 2006, n.82;

VISTA la direttiva (UE) 2015/1535 che prevede una procedura d'informazione nel settore delle regolamentazioni tecniche e delle regole relative ai servizi della società dell'informazione (codificazione);

DECRETA

Articolo 1

1. Sono approvati i metodi ufficiali di analisi per i fertilizzanti – Supplemento n. 13 descritti in allegato al presente decreto.
2. I metodi di analisi descritti nell'allegato al presente decreto si applicano al controllo dei fertilizzanti nazionali.

Articolo 2

Il presente decreto entra in vigore il giorno successivo alla sua pubblicazione sul sito Istituzionale del Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali.

p. IL MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE ALIMENTARI E FORESTALI
Il Direttore Generale della Direzione generale della prevenzione
e del contrasto alle frodi agro-alimentari

Roma, 31 maggio 2016

f.to Il Direttore Generale
Oreste Gerini



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

ALLEGATO

**METODI DI ANALISI PER IL CONTROLLO UFFICIALE DEI
FERTILIZZANTI**

Supplemento n. 13

1. Determinazione del rapporto isotopico dello Zolfo ($^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$)
2. Determinazione del contenuto di carbonio totale di origine biologica e di idrogeno totale
3. Analisi NMR di fanghi industriali e urbani. Fanghi urbani dopo trasformazione in gesso di defecazione, preceduta da eventuale trattamento con acqua ossigenata



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

1. Determinazione del rapporto isotopico dello Zolfo ($^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$)

AVVERTENZA: le persone incaricate di eseguire questo metodo di prova devono avere familiarità con la normale pratica di laboratorio; questo metodo non affronta i problemi di sicurezza associati alla sua applicazione, nel caso sussistessero. Resta a carico dell'utilizzatore stabilire buone pratiche per la sicurezza, per la salute e per garantire la conformità alla legislazione italiana.

1. Oggetto

Il presente documento descrive un metodo per la determinazione del rapporto isotopico dello zolfo ($^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$) nei fertilizzanti e/o matrici per i quali tale rapporto sia utile alla loro caratterizzazione e tracciabilità.

2. Campo di applicazione

Il presente metodo si può applicare a tutti i fertilizzanti, solidi e fluidi.

3. Termini e definizioni

$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$: rapporto isotopico di zolfo 34 e zolfo 32 per un dato campione. Questo valore è definito anche come R.

$\delta^{34}\text{S}$: contenuto in ^{34}S espresso in parti per 1000 (‰) rispetto al materiale di riferimento primario internazionale.

V-CDT: Vienna-Canyon Diablo Troilite (CDT) è lo standard universale di riferimento per le misure di rapporto isotopico dello zolfo e tutte le misure vengono espresse in riferimento a questo standard. Per quanto riguarda lo zolfo questo standard è un minerale di solfuro di ferro (Troilite) proveniente dal meteorite Canyon Diablo, che comprende numerosi frammenti di un asteroide che ha colpito la terra a Barringer Crater (Meteor Crater), in Arizona, USA. Materiali di riferimento calibrati sugli standard universali sono disponibili all'International Agency of Atomic Energy (IAEA) di Vienna (Austria).

4. Principio

Gli isotopi di un elemento presentano piccole differenze nelle loro proprietà fisiche e chimiche a causa delle loro differenze di massa. Per gli elementi che hanno basso numero atomico, queste differenze di massa sono sufficientemente ampie da far sì che reazioni termodinamiche o processi biologici possano portare a frazionamenti isotopici, cioè possano cambiare la proporzione relativa dei diversi isotopi dello stesso elemento nei vari composti (reagenti e prodotti della reazione). I frazionamenti isotopici possono avvenire in sistemi all'equilibrio (*equilibrium effects*) e consistono in uno scambio di isotopi tra ciascuna delle due specie molecolari o fasi che partecipano ad una reazione. La reazione può essere un semplice cambio di stato o una trasformazione chimica. I



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

frazionamenti isotopici avvengono anche a seguito di processi incompleti e unidirezionali, quali ad esempio evaporazione, reazioni di dissociazione, diffusione e reazioni biochimiche. Questo tipo di reazioni unidirezionali (*non-equilibrium effect*) porta generalmente ad un arricchimento preferenziale in isotopo leggero nei prodotti della reazione. In particolare, gli organismi viventi, attraverso le loro attività metaboliche producono sempre frazionamenti isotopici unidirezionali (*non-equilibrium effects*). Il frazionamento isotopico dovuto all'attività metabolica, comunque, può anche essere il risultato di entrambi i tipi di frazionamento dovuti a sistemi in equilibrio e reazioni unidirezionali. La composizione isotopica di una sostanza, quindi è il risultato della composizione isotopica del materiale originario e delle trasformazioni di carattere fisico, chimico e biochimico che questa subisce nel tempo. Il contenuto in ^{34}S è misurato nel gas SO_2 che si forma in seguito a completa combustione del campione.

Il confronto con standard di laboratorio calibrati sugli standard universali di riferimento consente di calcolare ed esprimere il contenuto di ^{34}S di un campione in termini di unità δ (‰).

5. Reazioni e interferenze

Il metodo si basa sull'utilizzo di una tecnica di analisi elementare accoppiata con la spettroscopia di massa; non sono utilizzate reazioni allo scopo analitico e non sono previste relative interferenze.

6. Reagenti

I materiali e i consumabili dipendono dall'apparecchiatura utilizzata dal laboratorio. I sistemi utilizzati per la combustione del campione sono in genere basati su analizzatori elementari. Tali sistemi possono essere predisposti per l'introduzione di campioni posti in capsule metalliche sigillate o per l'iniezione di campioni liquidi. In base al tipo di strumentazione utilizzata, si possono usare i seguenti materiali di riferimento, reagenti e consumabili:

6.1 Materiali di riferimento disponibili presso l'IAEA (a titolo indicativo):

| Nome | Materiale | $\delta^{34}\text{S}$ rispetto a V-CDT |
|-----------|--------------------|--|
| IAEA S-1 | Solfuro di argento | -0.30‰ |
| IAEA S-2 | Solfuro di argento | +22.7‰ |
| IAEA S-3 | Solfuro di argento | -32.3‰ |
| IAEA S-4 | Zolfo | +16.9‰ |
| IAEA SO-5 | Solfato di Bario | +0.5‰ |

6.2 Standard di lavoro

6.2.1 Biossido di zolfo (SO_2) di idonea purezza, come gas di riferimento secondario per la misurazione del $\delta^{34}\text{S}$.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

6.2.2 Standard di lavoro e di controllo interni con valore di riferimento del $\delta^{34}\text{S}$ calibrati rispetto ai materiali di riferimento internazionali (es. caseina).

6.3 Materiali di consumo

Di seguito si riporta un elenco indicativo relativo ai consumabili per i sistemi a flusso continuo.

6.3.1 Rame ossido (CuO) per microanalisi, granulare.

6.3.2 Rame ridotto (Cu) per microanalisi, in spire o fili.

6.3.3 Ossido di cromo (III) per microanalisi, granulare.

6.3.4 Magnesio perclorato ($\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$) per microanalisi, granulare.

6.3.5 Ossigeno (O_2) gassoso con purezza minima pari a 99,995%.

6.3.6 Elio (He) gassoso con purezza minima pari a 99,999%.

6.3.7 Capsule di stagno monouso, dimensione 5 (i.d.) x 8 (h) mm o simili.

6.3.8 Lana di quarzo.

6.3.9 Chromosorb (materiale assorbente inerte per la determinazione su campioni fluidi).

6.3.10 Spatolina a cucchiaio.

6.3.11 Pinzette.

6.3.12 Pipetta Pasteur.

Nota: il laboratorio può utilizzare differenti materiali e/o reagenti, in funzione della propria strumentazione, purché siano garantite le prestazioni minime richieste dal presente metodo.

7. Apparecchiatura

7.1 Spettrometro di massa per la determinazione dei rapporti isotopici (IRMS).

Lo spettrometro di massa isotopico consente la determinazione dei contenuti relativi di ^{34}S della SO_2 con una accuratezza interna, espressa come scarto tipo di 10 misure dello stesso campione di gas standard, non superiore a 0,08%.

Lo strumento deve essere equipaggiato con un sistema di flusso continuo che trasferisca nello spettrometro di massa la SO_2 proveniente dalla combustione dei campioni e degli standard di lavoro.

7.2 Analizzatore elementare



Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

L'analizzatore elementare, attraverso una combustione a secco in presenza di ossigeno, consente di convertire quantitativamente lo zolfo del campione in SO₂, di eliminare gli altri prodotti della combustione compresa l'acqua e di separare i gas formatisi.

L'analizzatore a sua volta può essere configurato con un auto-campionatore per solidi o per liquidi, il primo è comunque preferibile in quanto consente l'analisi di entrambe le tipologie di campioni, solidi e liquidi.

7.3 Bilancia di precisione con unità di formato minima di 10 µg.

8. Preparazione del campione

8.1 Preparazione del campione solido

Pesare sulla bilancia di precisione (7.3) un'aliquota di campione seccato all'aria e finemente macinato (< 250 µm) nelle capsule di stagno (6.3.7). Chiudere la capsula con le pinzette (6.3.11) avendo cura di non romperla e di non toccarla con le mani. Prendere il peso quando la capsula è chiusa.

8.2 Preparazione del campione fluido

Mettere nella capsula di stagno un po' di Chromosorb (6.3.9) in modo da avere sul fondo della capsula uno strato di materiale inerte. Fare la tara della capsula con il Chromosorb. Con la pipetta Pasteur o analoga mettere una piccola aliquota di campione fluido nella capsula. Chiudere la capsula con le pinzette (6.3.11) avendo cura di non romperla e di utilizzare guanti da laboratorio per evitare di lasciare residui sulla sua superficie.

Nota: La quantità di campione da pesare varia in genere da poche centinaia di microgrammi a pochi milligrammi a seconda del contenuto presunto di S del campione. Può essere utile a questo fine fare alcune analisi preliminari per definire la quantità ottimale di campione da pesare in modo che il segnale della SO₂ nello spettrometro sia il più possibile simile a quello dello standard di riferimento. E' possibile iniettare il campione con siringhe, eventualmente tramite autocampionatore per liquidi, rispettando i criteri sopra riportati.

8.3 Pulizia degli strumenti da lavoro

Lavare accuratamente le pinzette e la spatolina tra un campione e l'altro con acqua distillata ed etanolo.

8.4 Preparazione del bianco

Il bianco è costituito da una capsula vuota.

8.5 Preparazione dello standard



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

Pesare sulla bilancia di precisione un adeguato numero di capsule contenenti lo standard di lavoro e di controllo interni (6.2.2), in modo da avere una quantità di S dello standard tale da fornire un segnale il più possibile simile a quello del campione.

9. Procedimento

9.1 Verifiche strumentali

- Per una combustione ottimale del campione, regolare la temperatura dei forni dell'analizzatore elementare e i flussi di elio e ossigeno gassosi.
- Avviare una sequenza di analisi di almeno 10 campioni di standard di lavoro.

Lo scarto tipo essere inferiore a 0,15‰;

- Verificare anche l'efficacia del flash di combustione dell'analizzatore, mediante l'analisi di una capsula vuota;
- Prima di iniziare le misurazioni sui campioni, verificare il sistema servendosi dei materiali di lavoro e di controllo interni (6.2.2).

9.2 Preparazione della sequenza

La procedura di analisi è gestita da software. La sequenza di campioni da analizzare viene impostata sul software di gestione dello spettrometro di massa isotopico secondo il criterio che prevede, nell'ordine, un bianco iniziale, almeno due standard, i campioni e almeno altri due standard alla fine della sequenza. Di ogni campione vengono analizzate almeno 3 repliche.

10 Espressione dei risultati

Il valore dei rapporti isotopici, calcolato dal software, ed eventualmente corretto come sotto indicato, viene espresso come unità delta per mille (δ ‰):

$$\delta^{34}\text{S} \text{ ‰} = [(R_{\text{campione}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

R_{campione} e R_{standard} è il rapporto isotopico $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ rispettivamente del campione e dello standard. Lo standard universale di riferimento per il S è la Vienna Canyon Diablo Troilite (V-CDT).

Nei calcoli i valori grezzi di δ vengono impiegati con le tre cifre decimali fornite dallo strumento, mentre il risultato finale viene espresso con una cifra decimale.

11 Precisione

11.1 Ripetibilità

La ripetibilità delle misure, espressa come differenza assoluta tra due singoli risultati sullo stesso materiale di prova da un operatore utilizzando la stessa apparecchiatura nell'intervallo di tempo più breve possibile, non deve essere maggiore del valore di r. Il valore r per il $\delta^{34}\text{S} = 19,33$ è $r = 0,5\%$.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

Nota: il laboratorio tiene conto dei valori di ripetibilità, nel valutare la precisione ottenuta, per ciascun campione, a seguito della ripetizione delle tre repliche. Il confronto può essere effettuato attraverso il test F di Fisher o altro test statistico equivalente.

11.2 Accuratezza della misura

Tenuto conto che, durante la misurazione in linea, si possono verificare piccoli scostamenti dovuti alla variazione delle condizioni strumentali, il laboratorio predispone adeguate procedure di analisi per assicurare l'accuratezza della misura e la riferibilità agli standard di riferimento internazionale, anche attraverso l'utilizzo degli standard di lavoro interni e di controllo.

Nota: A titolo esemplificativo si riporta la seguente procedura. I valori sperimentali di $\delta^{34}\text{S}$ dei campioni devono essere corretti in base alla differenza tra il valore dello standard di lavoro e il suo valore reale, precedentemente tarato rispetto al V-CDT per confronto con uno dei materiali di riferimento internazionali. In tal caso, la correzione da apportare ai campioni varia in maniera lineare rispetto allo scostamento del valore dei due standard di lavoro che precedono e seguono i campioni stessi. Occorre misurare il riferimento di lavoro all'inizio e alla fine di ogni serie di campioni. Si può poi calcolare una correzione per ogni campione tramite un'interpolazione lineare tra i due valori (la differenza tra il valore assegnato allo standard di lavoro e le misure dei valori ottenuti).

12. Bibliografia

- Robinson, B. W. (1995): Sulphur isotope standards. Proceedings of a consultants' meeting held in Vienna, 1-3. Dec. 1993. IAEA-TECDOC-825, 39-45.
- Stichler, W., Gonfiantini, R., Rozanski, K. (1995): Reference and intercomparison materials for stable isotopes of light elements. Proceedings of a consultants' meeting held in Vienna, 1 - 3. ec. 1993. IAEA-TECDOC-825, 7-11.
- Coplen, T. B., Krouse, H. R. (1998): Sulphur isotope data consistency improved. *Nature*, 392, 32.
- Fritz, P., Drimmie, R.J., and Nowicki, V.K. (1974). Preparation of sulfur dioxide for mass spectrometer analyses by combustion of sulfides with copper oxide. *Anal. Chem.*, 46, 164-6.
- Haur, A., Hladikova, J., and Smejkal, V. (1973). Procedure of direct conversion of sulfates into SO₂ for mass spectrometric analysis of sulfur. *Isotopenpraxis*, 9, 329-31.
- Robinson, B.S., and Kusakabe, M. (1975). Quantitative preparation of sulfur dioxide, for ³⁴S analyses, from sulfides by combustion with cuprous oxide. *Anal. Chem.*, 47, 1179-81.
- Ueda, A., and Krouse, H.R. (1987). Direct conversion of sulphide and sulphate minerals to SO₂ for isotope analyses. *Geochem. J.*, 20, 209-12.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

2. Determinazione del contenuto di carbonio totale di origine biologica e di idrogeno totale

AVVERTENZA: Le persone incaricate di eseguire questo metodo di prova devono avere familiarità con la normale pratica di laboratorio. Questo metodo non affronta i problemi di sicurezza associati al suo impiego, se mai esistessero. Resta a carico dell'utilizzatore stabilire buone pratiche per la sicurezza, per la salute e per garantire la conformità alla legislazione italiana.

1. Introduzione

Il presente metodo di prova è specifico per la determinazione del carbonio e dell'idrogeno nel biochar.

2. Oggetto

Il presente documento propone un metodo per la determinazione del carbonio e dell'idrogeno nel biochar classificato come ammendante e componente di substrati di coltivazione. Il metodo proposto, combustione a secco, è stato sviluppato come metodo manuale da Dumas. La sua applicazione è stata notevolmente migliorata mediante l'impiego di strumentazione automatizzata.

3. Campo di applicazione

Il presente metodo di prova è applicabile limitatamente alla matrice biochar ottenuta da pirolisi e gassificazione da utilizzarsi in qualità di ammendante e/o componente di substrati di coltivazione. I limiti di rilevabilità e di campo di misura sono riferibili e riconducibili alla tipologia di strumento utilizzato. Il campo di misura è compreso tra 0,2% e 95% di C e tra 0,1% e 13% di H.

4. Riferimenti normativi

UNI EN 13040:2008, Ammendanti e substrati per coltura. Preparazione del campione per prove fisiche e chimiche, determinazione del contenuto di sostanza secca, del contenuto di umidità e della massa volumica apparente su un campione compattato in laboratorio.

UNI EN 12579:2002, Ammendanti e substrati di coltura. Campionamento.

5. Termini e definizioni

I termini e le definizioni riportati in questo metodo sono quelli di cui alla norma di riferimento UNI EN 13040:2008.

6. Principio

Il metodo è fondato sulla completa e istantanea ossidazione del campione per "flash combustion". Il campione viene riscaldato a temperatura di almeno 900°C in presenza di ossigeno; i composti derivanti dalla combustione (CO₂, N₂, H₂O e SO₂) vengono rilevati mediante rivelatore a conducibilità termica.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

7. Reazioni e interferenze

A seguito della completa e istantanea ossidazione del campione per "flash combustion" avviene la conversione di tutte le sostanze organiche ed inorganiche in prodotti gassosi. I gas di combustione passano, in corrente di elio, su strato di opportuno catalizzatore, per completare il processo di ossidazione, e quindi su strato di rame per allontanare l'eccesso di ossigeno. Successivamente la miscela gassosa viene separata per gascromatografia; CO₂ e H₂O (oltre a N₂, e SO₂) vengono rilevati da un detector a conducibilità termica o ad assorbimento IR. Il calcio carbonato (carbonio inorganico), che è eventualmente presente nel campione, può essere rimosso preventivamente mediante trattamento con HCl o sottratto successivamente a seguito di determinazione gas volumetrica e calcolo stechiometrico del C inorganico.

8. Reattivi

Usare solo reagenti di qualità analitica riconosciuta.

Materiale di riferimento a titolo noto; a titolo di esempio acetilide (C₈H₉NO) (n. CAS 103-84-4), atropina (C₁₇H₂₃NO₃) (n. CAS 51-55-8), cicloesano 2-4 DNPH (C₁₂H₁₄N₄O₄) (n. CAS 1589-62-4). I materiali di riferimento dovrebbero avere una concentrazione dell'elemento ricercato il più possibile prossima a quella presente nella matrice da analizzare.

9. Apparecchiature e materiali di consumo

Normale apparecchiatura di laboratorio, in particolare:

9.1 Bilancia analitica, in grado di pesare con precisione di 1,0 mg.

9.2 Analizzatore elementare CHN o CHNS (apparecchio Dumas), utilizzato per determinare il contenuto di carbonio e idrogeno dalla combustione del campione a una temperatura di almeno 900° C, compreso rivelatori per determinare la quantità di carbonio e idrogeno presenti.

9.3 Capsule di stagno (o in argento) monouso, di dimensione adeguata allo strumento di utilizzo (consultare manuale d'uso dello strumento in dotazione)

10. Campionamento

UNI EN 12579:2002, Ammendanti e substrati di coltura. Campionamento.

11. Procedimento

11.1 Preparazione delle aliquote di prova

Pesare in una capsula di stagno (9.3), con l'approssimazione di 0,1 mg, un'aliquota del campione seccato a 75° C, come indicato nella norma UNI EN 13040:2008 (paragrafo 9) e successivamente macinato a 0,5 mm, in relazione alla concentrazione dell'elemento previsto nel campione.

Nel contempo, su una seconda aliquota di campione secco a 75°C, determinare l'umidità residua del campione a 105° C come indicato nella norma UNI EN 13040:2008 al fine di poter esprimere il dato finale sulla sostanza secca.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

11.2 Taratura del sistema di misura

Calibrare lo strumento come descritto nel manuale del produttore. Ai fini della calibrazione utilizzare una delle sostanze indicate al paragrafo 8, o comunque un materiale di riferimento a titolo noto dell'elemento che si vuole determinare. Sempre seguendo le indicazioni riportate nel manuale del produttore, effettuare una retta di taratura con minimo 3 punti di concentrazione dell'elemento che si vuole determinare, accertandosi che la lettura del campione fornisca un dato che sia compreso nei due estremi della retta di taratura realizzata.

11.3 Determinazione

Una volta chiuse, le capsule di stagno vanno poste nel campionatore dello strumento, procedendo successivamente secondo le indicazioni e istruzioni di lavoro dello strumento fornite dal produttore.

12. Espressione dei risultati

Il contenuto di carbonio totale e idrogeno, espressi in % di sostanza secca, viene calcolato secondo le seguenti formule:

Carbonio totale:

$$C_{tot} = \frac{C_1}{M_1} \cdot \frac{1}{10}$$

dove:

C tot = % carbonio totale su sostanza secca.

C1= mg di carbonio totale presente nell'aliquota del campione analizzato.

M1 = g sostanza secca del campione analizzato, calcolati come segue:

$$M_1 = \text{grammi del campione secco a } 75^\circ\text{C} \times \frac{[100 - \text{umidità residua } \%]}{100}$$

10 = coefficiente per riportare il dato finale in percentuale (%).

Il risultato analitico si esprime con 1 cifra decimale.

Per esprimere il contenuto di carbonio totale di origine biologica nel campione, qualora il carbonio inorganico non sia stato rimosso preventivamente, sottrarre al valore di carbonio totale il valore di carbonio inorganico (determinato a parte con metodo gas-volumetrico).

NOTA

Descrizione metodo gas volumetrico con calcimetro per la determinazione di carbonio inorganico nel biochar.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

Un campione contenente carbonati (carbonio inorganico), messo a contatto con una soluzione acida, produce CO₂.

Il calcimetro (disponibile in commercio in diversi modelli) è uno strumento di semplice funzionamento, in grado di quantificare il volume di CO₂ prodotto da un campione mediante la lettura della variazione del livello di acqua contenuta nel tubo graduato dello strumento. La quantità di CO₂ prodotta viene espressa come CaCO₃.

Un'aliquota di campione (compresa fra 0,25 e 1,0 grammo), preparata secondo la norma UNI EN 13040:2008 (paragrafo 9, secco a 75°C), viene posta in una beuta nella quale è presente un secondo contenitore contenente 10 mL di una soluzione di HCl 1:1 v/v; una volta collegata al calcimetro, la beuta viene inclinata e manualmente agitata al fine di portare la soluzione acida a contatto con il campione e favorire la produzione di gas (CO₂). La quantità di gas prodotto viene quantificata rilevando nel tubo graduato la variazione del livello dell'acqua in esso contenuta (variazione in mL). Ogni 5 minuti, qualora il livello dell'acqua nel tubo graduato è variato, agitare leggermente la beuta contenente il campione con la soluzione acida. Quando il livello dell'acqua nel tubo graduato non è variato per almeno 1 ora, rilevare la variazione totale del livello dell'acqua nel tubo graduato, equivalente ai mL di CO₂ prodotta dal campione. Nel contempo si effettua una prova in bianco (stesse condizioni operative in assenza del campione). Prima di effettuare la misura sul campione, lo strumento viene calibrato utilizzando uno standard di CaCO₃ 100% (la calibrazione dello strumento viene effettuata su minimo due diverse concentrazioni di CaCO₃ 100%).

La CO₂ prodotta dal campione, espressa come % di CaCO₃, viene calcolata secondo la seguente formula:

dove:

CaCO₃: % carbonato di calcio presente nel campione analizzato (esprimere il dato con 1 cifra decimale)

100 = fattore di conversione per esprimere il dato in %

m1 = peso in grammi del campione

m2 = peso medio in grammi delle due concentrazioni dello standard utilizzati per la calibrazione

V1 = volume in mL della CO₂ prodotta dal campione

V2 = volume medio in mL della CO₂ prodotta dalle due concentrazioni dello standard utilizzati per la calibrazione

V3 = volume in mL della CO₂ prodotta dalla prova in bianco

Per riportare il dato sulla sostanza secca, utilizzare il dato dell'umidità residua determinato su un'aliquota separata di campione secondo la UNI EN 13040:2008.



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

Il carbonio totale di origine biologica viene calcolato mediante la seguente formula:

$$C_{org} = C_{tot} - C_{inorg}$$

dove:

C_{org} = % carbonio totale di origine biologica su sostanza secca.

C_{tot} = % carbonio totale su sostanza secca.

C_{inorg} = % carbonio inorganico su sostanza secca ottenuto con la seguente formula.

$$C_{inorg} = CaCO_3 \times 0,12.$$

dove:

$CaCO_3$ = % $CaCO_3$ su sostanza secca.

0,12 = fattore di conversione per ottenere la contenuto di C presente nel $CaCO_3$.

Idrogeno totale:

$$H_{tot} = \frac{H_1}{M_1} \cdot \frac{1}{10}$$

dove:

H_{tot} = % idrogeno totale su sostanza secca.

H_1 = mg di idrogeno totale presente nell'aliquota del campione analizzato.

M_1 = g sostanza secca del campione analizzato, calcolati come segue:

$$M_1 = \text{grammi del campione secco a } 75^\circ\text{C} \times \frac{[100 - \text{umidità residua } \%]}{100}$$

10 = coefficiente per riportare il dato finale in percentuale (%).

Il risultato analitico si esprime con 1 cifra decimale.

13. Precisione

13.1 Ripetibilità stretta (costante su tutto il campo di misura)

Limite di ripetibilità (r) Carbonio = 0,40 %

Limite di ripetibilità (r) Idrogeno = 0,10 %

13.2 Riproducibilità:

NOTA: I limiti di riproducibilità indicati nel documento sono quelli riportati nella norma DIN 51732:2007/2008 per la determinazione di carbonio e idrogeno in matrici carboniose (quale è il



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

biochar) e sono stati ottenuti mediante applicazione della norma ISO 5725-1, con realizzazione di un "proficiency test" su 10 differenti campioni di biochar, a differenti livelli di concentrazioni degli analiti da ricercare, alla quale hanno partecipato 11 laboratori.

Limite di riproducibilità (R) Carbonio = 0,85 %
Limite di riproducibilità (R) Idrogeno = 0,40 %

14. Esattezza (Recupero)

Indice di recupero Carbonio > 97%
Indice di recupero Idrogeno > 97%

15. Limite di rilevabilità

Limite di rilevabilità Carbonio = 0,07% m/m
Limite di rilevabilità Idrogeno = 0,03% m/m

16. Limite di quantificazione

Limite di quantificazione Carbonio: 0,2% m/m
Limite di quantificazione Idrogeno: 0,1% m/m

17. Bibliografia

- Dumas J.B.A. 1831. Procédes de l'analyse organique. Ann. Chim. Phys. 247:198-213
- ISO 10694:1995. Soil Quality. Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland.
- UNI EN 13654-02:2001 Ammendanti e substrati per coltura - Determinazione dell'azoto - Metodo Dumas
- UNI EN 15104:2011 - Biocombustibili solidi - Determinazione del contenuto totale di carbonio, idrogeno e azoto - Metodi strumentali
- DIN 51732:2007-08 - Testing of solid mineral fuels - Determination of total carbon, hydrogen and nitrogen - Instrumental methods



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

3. Analisi NMR di fanghi industriali e urbani. Fanghi urbani dopo trasformazione in gesso di defecazione, preceduta da eventuale trattamento con acqua ossigenata

AVVERTENZA: Le persone incaricate di eseguire questo metodo di prova devono avere familiarità con la normale pratica di laboratorio. La descrizione del metodo non affronta i problemi di sicurezza associati al suo impiego, se mai esistessero. Resta a carico dell'utilizzatore stabilire buone pratiche per la sicurezza, per la salute e per garantire la conformità alla legislazione italiana.

1. Oggetto

Il presente documento fissa un metodo di analisi in risonanza magnetica (NMR) di fanghi di origine industriale e urbana.

2. Scopo e campo di applicazione

Il metodo consente di distinguere i fanghi di origine urbana da quelli di provenienza industriale, anche in miscele dei due. Il metodo non richiede alcun pretrattamento chimico, fisico e/o biologico del campione, a parte essiccare in stufa il materiale prima dell'analisi NMR.

3. Principio del metodo

Il metodo non prevede la purificazione del fango, che viene quindi analizzato tal quale, previo essiccamento in stufa. Si preleva una quantità di campione non inferiore a 100 mg che vengono trasferiti in un rotore di zirconio con diametro pari a 7 mm per analisi NMR allo stato solido. Viene quindi registrato lo spettro ^{13}C -CPMAS-NMR (Cross Polarization Magic Angle Spinning) facendo ruotare il campione ad una velocità di 7 KHz, e lo spettro risultante, composto da una decina di segnali, viene separato nei vari contributi (deconvoluzione). La durata dell'analisi è di circa 12 – 18 ore.

4. Reazioni e interferenze

Nessuna interferenza, vista l'assenza di manipolazione chimica prevista nella fase di preparazione del campione.

5. Apparecchiatura

- 5.1 Stufa
- 5.2 Spettrometro NMR con:
 - sonda per analisi campioni solidi da 7 mm;



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

- operante alla frequenza ^1H di 300 MHz o superiore;
- con canali di radiofrequenze per i nuclei ^1H e ^{13}C ;
- funzionante ad impulsi e con Trasformata di Fourier del segnale NMR;
- sistema di ottimizzazione della frequenza del ^1H (tuning e matching);
- sistema di ottimizzazione dell'omogeneità di campo (shimming);
- canali per gradienti lungo la direzione z.

5.3 Bilancia analitica.

5.4 Rotori da 7 mm per analisi NMR allo stato solido.

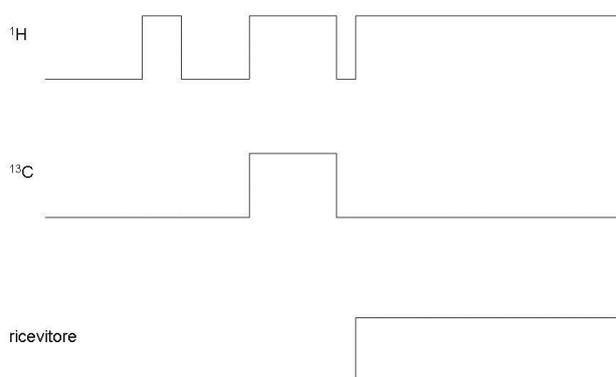
6. Procedimento

6.1. Preparazione del campione

Essiccare il campione in stufa sino ad ottenere una polvere. Impaccare quindi il rotore per NMR allo stato solido con una quantità di campione maggiore o uguale a 100 mg.

6.2 Misura

Inserire il rotore nello spettrometro NMR dotato di sonda per l'analisi allo stato solido, ottimizzare quindi l'omogeneità del campo magnetico B_0 e la frequenza dei nuclei ^1H e ^{13}C . Registrare quindi lo spettro NMR usando una sequenza con trasferimento di polarizzazione dal nucleo del ^1H a quello del ^{13}C . La figura di seguito riporta lo schema generale di tale sequenza.



Si eseguono 140.800 scansioni usando una finestra spettrale di 240,00 ppm centrata a 110,00 ppm. Lo spettro acquisito viene moltiplicato per un fattore pre-esponenziale di 5 Hz per ridurre il rumore, e quindi trasferito dal dominio dei tempi a quello delle frequenze tramite la trasformata di Fourier. Si procede quindi alla correzione della linea di base e della fase. Lo spettro è dato dalla



*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

somma di circa 10 segnali, ognuno corrispondente ad uno specifico gruppo funzionale delle molecole presenti. I singoli contributi vengono calcolati come percentuale rispetto al totale misurando l'area sottesa dai segnali: questa procedura viene applicata utilizzando un comune programma di deconvoluzione.

7. Calcolo ed espressione dei risultati

Le variazioni analitiche riscontrabili in un fango di origine industriale rispetto a uno di provenienza urbana sono riconducibili a due specifici segnali centrati a 155,2 ppm e 196,3 ppm. Essi sono completamente assenti, o hanno intensità inferiore a 0,1%, nel caso di un fango di origine urbana, ed hanno intensità maggiore allo 0,5% in uno industriale. Basta quindi osservare la presenza di questi due segnali per avere la certezza sulla tipologia del fango analizzato.

8. Parametri statistici

Per i parametri statistici relativi al presente metodo, si rimanda all'Allegato 1.

ALLEGATO 1

Validazione statistica del metodo

Si riportano i valori di ripetibilità del metodo ottenuti nell'analisi di quattro fanghi industriali provenienti da diverse località.

La tabella che segue riporta i risultati ottenuti per il segnale a 155,2 ppm.

| Parametro | Fango 1 | Fango 2 | Fango 3 | Fango 4 |
|---------------|---------|---------|---------|---------|
| Integrale (%) | 1,78 | 0,94 | 1,01 | 1,24 |
| r (%) | 0,03 | 0,01 | 0,04 | 0,01 |

La tabella che segue riporta i risultati ottenuti per il segnale a 196,3 ppm di fanghi tal quali e trattati.

| Parametro | Fango 1 tal quale | Fango 1 trasformato in gesso | Fango 2 tal quale | Fango 2 trasformato in gesso |
|---------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|------------------------------------|
| Integrale (%) | 2,49 | 1,89 | 1,47 | 1,24 |
| r (%) | 0,04 | 0,07 | 0,03 | 0,07 |



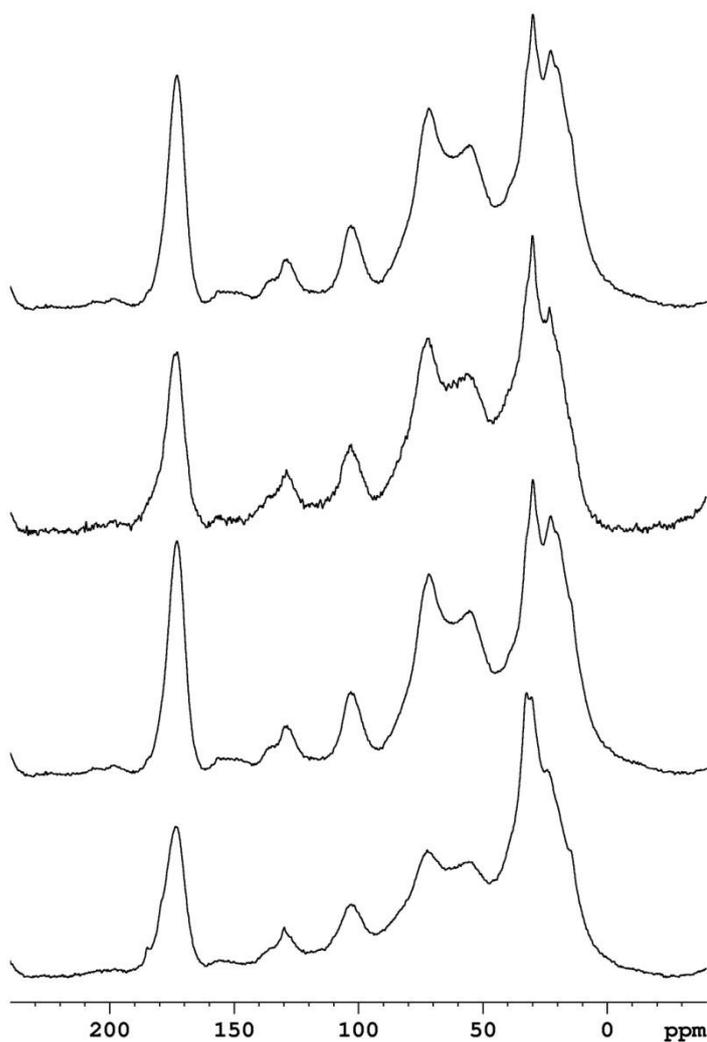
*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

ALLEGATO 2

Analisi tramite ^{13}C -CPMAS-NMR di (a) 4 fanghi industriali a diversa composizione, (b) fango di origine urbana non trattato, (c) fango urbano dopo la trasformazione in gesso di defecazione senza o (d) con pretrattamento con H_2O_2

a) **Fanghi industriali**

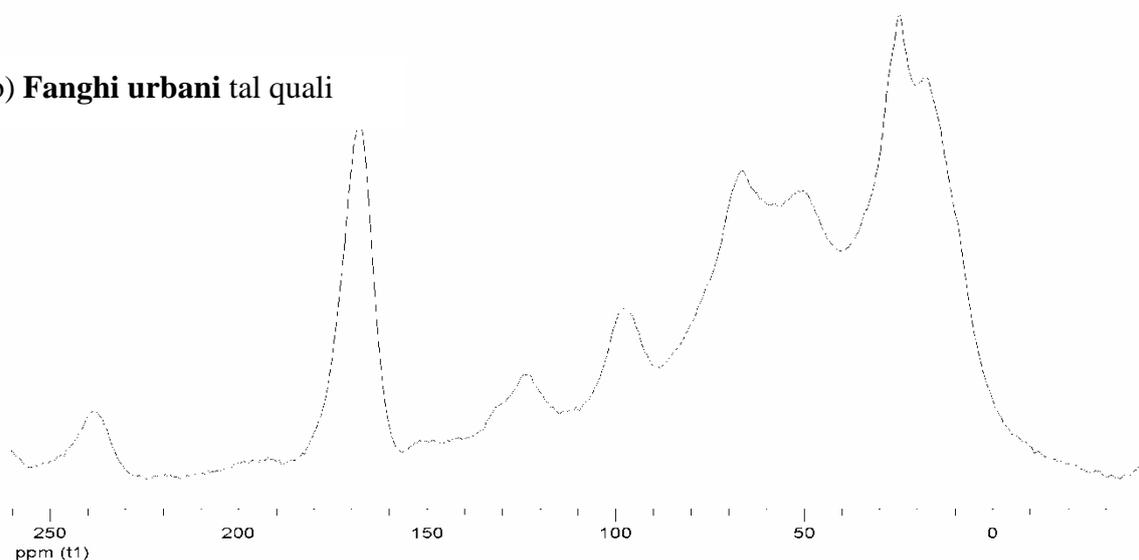




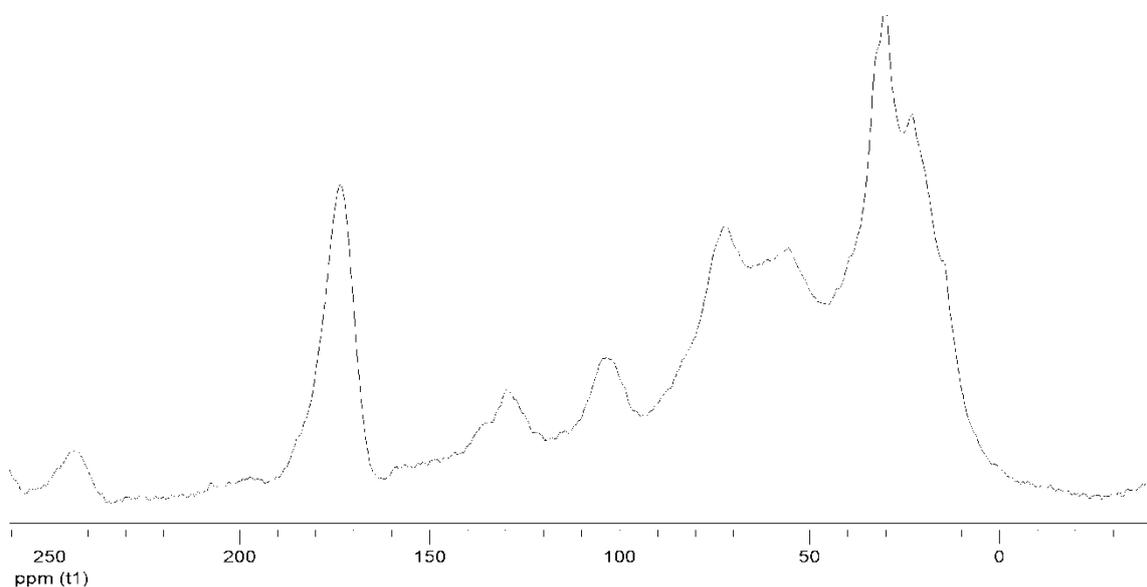
*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL'ISPettorato CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

b) **Fanghi urbani** tal quali



c) **Fanghi urbani** dopo trasformazione in gesso di defecazione senza pretrattamento con H₂O₂





*Ministero delle politiche agricole
alimentari e forestali*

DIPARTIMENTO DELL' ISPETTORATO CENTRALE DELLA TUTELA DELLA QUALITA' E
REPRESSIONE FRODI DEI PRODOTTI AGRO-ALIMENTARI
DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE E DEL CONTRASTO
ALLE FRODI AGRO-ALIMENTARI

d) **Fanghi urbani** trasformati in gesso di defecazione dopo trattamento con H_2O_2 .

