386R3711

Nr L 342/8 *EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS OFFICIELLA TIDNING* 5.12.86

KOMMISSIONENS FÖRORDNING (EEG) nr 3711/86

av den 4 december 1986

om ändring av förordning (EEG) nr 625/78 om tillämpningsföreskrifter för offentlig lagring av skummjölkspulver

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska ekonomiska gemenskapen,

med beaktande av rådets förordning (EEG) nr 804/68 av den 27 juni 1968 om den gemensamma organisationen av marknaden för mjölk och mjölkprodukter(1), senast ändrad genom förordning (EEG) nr 1335/86(2), särskilt artikel 7.5 i denna, och

med beaktande av följande:

I artikel 3 i rådets förordning (EEG) nr 1014/68 av den 20 juli 1968 om allmänna bestämmelser om offentlig lagring av skummjölkspulver(3), senast ändrad genom förordning (EEG) nr 1272/79(4), fastställs att interventionspriset skall gälla för skummjölkspulver som levereras till ett lager som ligger inom ett maximalt avstånd, som skall fastställas, från den plats där det lagrades. Om det lager till vilket skummjölkspulvret levereras är beläget på ett avstånd som är större än det maximala avståndet skall de extra transportkostnaderna, som skall fastställas schablonmässigt, bäras av interventionsorganen.

I kommissionens förordning (EEG) nr 625/78(5), senast ändrad genom förordning (EEG) nr 2256/86(6), fastställs det aktuella maximala avståndet till 100 km. Erfarenheten har visat att detta maximala avstånd är otillräckligt för att interventionsorgan skall kunna få tillgång till offentliga lager på bästa möjliga villkor. Avståndet bör därför ökas till 350 km.

I punkt 2 i bilaga 1 till förordning (EEG) nr 625/78 om kvaliteten på skummjölkspulver fastställs de kontrollmetoder som skall användas för att undersöka vissa produkter. Vid provtagningen bör hänvisning göras till internationella standarder.

I bilaga 4 till förordning (EEG) nr 625/78 fastställs metoden för bestämning av fri sialinsyra för att påvisa vassle i skummjölkspulver avsett för offentlig lagring. Denna metod användes temporärt till och med den 31 mars 1986. Nämnda bilaga bör därför utgå.

Förvaltningskommittén för mjölk och mjölkprodukter har inte yttrat sig inom den tid som dess ordförande har bestämt.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Förordning (EEG) nr 625/78 ändras på följande sätt:

1. I artikel 5.1 skall "100 km" ersättas med "350 km".

2. I bilaga 1.2 a skall "ISO standard" ersättas med "internationell standard ISO" överallt där detta uttryck förekommer.

3. I bilaga 1.2 b skall den andra strecksatsen ersättas med följande:

   "vassle:

   bestämning av glykomakropeptider med högtrycksvätskekromatografi(3)."

4. I bilaga 1.2 skall följande punkt c läggas till:

   "c) Prover skall tas i enlighet med det förfarande som fastställs i internationell standard ISO 707. Medlemsstater får emellertid använda andra provtagningsmetoder, förutsatt att den använda metoden är förenlig med principerna för ovan nämnda standard."

5. I bilaga 1 skall fotnot 4 utgå.

6. Bilaga 4 skall utgå.

7. Bilaga 5 skall ersättas med bilagan till denna förordning.

Artikel 2

Denna förordning träder i kraft samma dag som den offentliggörs i *Europeiska gemenskapernas officiella tidning.*

Artikel 1.4 och 1.7 skall emellertid tillämpas från och med den 2 februari 1987.

(1) EGT nr L 148, 28.6.1968, s. 13.
(2) EGT nr L 119, 8.5.1986, s. 19.
(3) EGT nr L 173, 22.7.1968, s. 4.
(4) EGT nr L 161, 29.6.1979, s. 11.
(5) EGT nr L 84, 31.3.1978, s. 19.
(6) EGT nr L 196, 18.7.1986, s. 41.

Denna förordning är till alla delar bindande och direkt tillämplig i alla medlemsstater.

Utfärdad i Bryssel den 4 december 1986.

På kommissionens vägnar
Frans ANDRIESSEN
Vice ordförande

BILAGA

"BILAGA 5

FASTSTÄLLANDE AV VASSLEFÖREKOMST I SKUMMJÖLKSPULVER AVSETT FÖR OFFENTLIG LAGRING GENOM BESTÄMNING AV GLYKOMAKROPEPTIDER MED HÖGTRYCKSVÄTSKEKROMATOGRAFISK METOD (HPLC).

1. **Syfte och tillämpningsområde**

Med denna metod kan vassle påvisas i skummjölkspulver avsett för offentlig lagring genom bestämning av glykomakropeptider.

2. **Hänvisning**

Internationell standard ISO 707 – mjölk och mjölkprodukter – metoder för provtagning i enlighet med riktlinjerna i bilaga 1.2 c sista stycket.

3. **Definition**

Glykomakropeptidhalten i skummjölkspulver: halten substanser fastställd med den nedan beskrivna metoden och uttryckt i viktprocent.

4. **Princip**

— Skummjölkspulvret löses i vatten, fett och proteiner avlägsnas med triklorättiksyra, varefter lösningen centrifugeras.

— Bestämning av kvantiteten glykomakropeptider (GMP) i supernatanten med högtrycksvätskekromatografi (HPLC).

— Bedömning av det resultat som erhålls från proverna med hänvisning till standardprover som består av skummjölkspulver med eller utan tillsats av en känd procentsats vasslepulver.

5. **Reagenser**

Alla reagenser skall vara av för analytiska ändamål godkänd klass. Vattnet skall vara destillerat vatten eller vatten med minst motsvarande renhetsgrad.

5.1 *Triklorättiksyralösning*

Lös 240 g triklorättiksyra (Cl_3CCOOH) i vatten och späd till 1 000 ml.

5.2 *Elueringslösning pH 6,0*

Lös 1,74 g dikaliumvätefosfat (K_2HPO_4), 12,37 g kaliumdivätefosfat (KH_2PO_4) och 21,41 g natriumsulfat (Na_2SO_4) i ca 700 ml vatten.

Justera vid behov till pH 6,0 med en lösning av fosforsyra eller kaliumhydroxid.

Späd till 1 000 ml med vatten och homogenisera.

Före användning skall elueringslösningen filtreras genom filtermembran med pordiameter 0,45 µm.

5.3 *Tvättvätska*

Blanda en del acetonitril (CH_3CN) med nio delar vatten. Före användning skall blandningen filtreras genom filtermembran med pordiameter 0,45 µm.

OBS! Andra tvättvätskor med bakteriedödande effekt får användas, förutsatt att de inte sätter ned kolonnens separationsförmåga.

5.4 *Standardprover*

5.4.1 Skummjölkspulver som uppfyller kraven i förordning (EEG) nr 625/78 (dvs. [0]).

5.4.2 Samma skummjölkspulver uppblandat med 5 % (m/m) vasslepulver med en standardsammansättning (dvs. [5]).

6. **Utrustning**

6.1 Analysvåg.

6.2 Centrifug med kapacitet för en centrifugalkraft på 2 200, utrustad med proppförsedda centrifugrör som rymmer ca 25 ml.

6.3 Mekanisk skakapparat.

6.4 Magnetomrörare.

6.5 Glastrattar, diameter ca 7 cm.

6.6 Filtrerpapper, medelfint, diameter ca 12,5 cm.

6.7 Glasfilterutrustning, filtermembran med pordiameter 0,45 µm.

6.8 Graderade pipetter som medger tillförsel av 10 ml (ISO 648, klass A, eller ISO/R 835).

6.9 Termostatstyrt vattenbad, inställt på 25 ± 0,5 °C.

6.10 Utrustning för högtrycksvätskekromatografi (HPLC) bestående av:

6.10.1 Pump.

6.10.2 Spruta, manuell eller automatisk, med kapaciteten 15–30 µl.

6.10.3 Två sammankopplade kolonner TSK 2000-SW (längd 30 cm, inre diameter 0,75 cm) eller motsvarande kolonner med förkolonn (3 cm × 0,3 cm) fylld med I 125 eller material som är lika effektivt.

6.10.4 Termostatstyrd kolonnugn, inställd på 35 ± 1 °C.

6.10.5 UV-detektor, variabel våglängd, som medger mätningar vid 205 mm med känsligheten 0,008 A.

6.10.6 Integrator som medger integrering av enskilda toppar.

OBS! Man kan använda kolonner vid rumstemperatur, men separationsförmågan blir då något lägre. I sådant fall bör vid varje analys temperaturvariationen vara mindre än ± 5 °C.

7. **Provtagning**

7.1 Internationell standard ISO 707 — Provtagningsmetoder för mjölk- och mjölkprodukter enligt riktlinjerna i bilaga 1.2 c, sista stycket.

7.2 Proven skall förvaras under sådana förhållanden som förhindrar nedbrytning eller förändring i sammansättningen.

8. **Förfarande**

8.1 *Beredning av proverna*

Överför mjölkpulvret till ett kärl som rymmer ungefär dubbelt så stor volym som pulvrets och som är försett med lufttätt lock. Förslut behållaren omedelbart.

Blanda mjölkpulvret väl genom att upprepade gånger vända behållaren.

8.2 *Provmängd*

Väg upp 2,000 ± 0,001 g av testmaterialet i ett centrifugrör (6.2).

8.3 *Borttagande av fett och proteiner*

8.3.1 Tillsätt 20 g varmt vatten (50 °C) till det uppvägda provet. Lös pulvret genom att skaka det 5 minuter i mekanisk skakapparat (6.3). Kyl röret till 25 °C.

8.3.2 Tillsätt under två minuter 10,0 ml av triklorättiksyralösningen (5.1) under omröring med magnetomröraren (6.4). Placera röret i vattenbad (6.9) och lämna det i 60 minuter.

8.3.3 Centrifugera (6.2) i 10 minuter vid 2 200 g eller filtrera genom pappersfilter (6.6) och kasta de första 5 ml av filtratet.

8.4 *Kromatografisk analys*

8.4.1 Spruta in 15–30 µl noggrant uppmätt supernatant eller filtrat (8.3.3) i HPLC-apparaten (6.10) med en flödeshastighet av 1,0 ml elueringslösning (5.2) per minut.

OBS!

1. Håll elueringslösningen (5.2) vid 85 °C under den kromatografiska analysen för att bibehålla eluenten avgasad och för att förhindra bakterieväxt. Annan åtgärd med samma effekt får användas.

2. Skölj kolonnerna med vatten under varje uppehåll. Lämna aldrig elueringslösningen i dem (5.2).

Före varje uppehåll på mer än 24 timmar, skölj kolonnerna med vatten, tvätta dem sedan med lösning (5.3) under minst tre timmar med en flödeshastighet av 0,2 ml per minut.

8.4.2 Resultaten av den kromatografiska analysen av provet [E] erhålls i form av kromatogram där varje topp definieras av sin retentionstid (RT) enligt följande:

Topp II: Andra toppen i kromatogrammet med en retentionstid av ca 12,5 minuter.

Topp III: Tredje toppen i kromatogrammet, motsvarande GMP med en retentionstid av 15,5 ± 1,0 minuter.

Topp IV: Fjärde toppen i kromatogrammet med en retentionstid av ca 17,5 minuter.

Kolonnens kvalitet kan påverka de enskilda topparnas retentionstid.

Integratorn (6.10.6) beräknar automatiskt arean A för varje topp:

A_{II}: arean av topp II,

A_{III}: arean av topp III,

A_{IV}: arean av topp IV.

Det är av största vikt att varje kromatograms utseende undersöks före kvantitativ bestämning för att upptäcka eventuella avvikelser som beror antingen på felfunktion hos apparaten eller kolonnerna eller ursprunget eller beskaffenheten hos det analyserade provet.

Upprepa analysen i händelse av tveksamhet.

8.5 *Kalibrering*

8.5.1 Tillämpa *exakt* det förfarande som beskrivs i punkt 8.2–8.4.2 på standardproven (5.4).

Använd nyberedda lösningar, eftersom GMP bryts ner i 8 %-ig triklorättiksyralösning. Förlusten kan uppskattas till 0,2 % per timme vid 30 °C.

8.5.2 Före kromatografisk analys av proven, fukta kolonnerna genom att upprepade gånger spruta in standardprov (5.4.2) i lösning (8.5.1) tills arean och retentionstiden för toppen som motsvarar GMP är konstanta.

8.5.3 Bestäm kalibreringsfaktorn R genom att spruta in samma volym filtrat (8.5.1) som används i proven.

9. Resultatangivelse

9.1 *Beräkningsmetod och formler*

9.1.1 Beräkning av kalibreringsfaktorerna R:

Topp II: $R_{II} = \frac{100}{A_{II}[0]}$

Topp IV: $R_{IV} = \frac{100}{A_{IV}[0]}$

där:

R_{II} och R_{IV} = kalibreringsfaktorerna för topp II respektive topp IV

$A_{II}[0]$ och $A_{IV}[0]$ = areorna av standardprovets [0]topp II respektive topp IV erhållna i 8.5.3.

Topp III: $R_{III} = \frac{W}{A_{III}[5] - A_{III}[0]}$

där:

R_{III} = kalibreringsfaktorn för topp III,

$A_{III}[0]$ och $A_{III}[5]$ = areorna av topp III i standardprov [0] respektive [5] erhållna i 8.5.3,

W = mängden vassle i standardprov [5], dvs. 5.

9.1.2 Beräkning av den relativa arean av topparna i provet [E]

$S_{II}[E] = R_{II} \times A_{II}[E]$

$S_{III}[E] = R_{III} \times A_{III}[E]$

$S_{IV}[E] = R_{IV} \times A_{IV}[E]$

där:

$S_{II}[E]$, $S_{III}[E]$, $S_{IV}[E]$ = de relativa areorna av topparna II, III respektive IV i provet [E],

$A_{II}[E]$, $A_{III}[E]$, $A_{IV}[E]$ = areorna av topparna II, III respektive IV i provet [E] som erhållits i 8.4.2,

R_{II}, R_{III}, R_{IV} = kalibreringsfaktorerna som beräknats i 9.1.1.

9.1.3 Beräkning av den relativa retentionstiden för topp III i provet [E]

$$RRT_{III}[E] = \frac{RT_{III}[E]}{RT_{III}[5]}$$

där

$RRT_{III}[E]$ = den relativa retentionstiden för topp III i prov [E],

$RT_{III}[E]$ = retentionstiden för topp III i prov [E] som erhållits i 8.4.2,

$RT_{III}[5]$ = retentionstiden för topp III i kontrollprovet [5] som erhållits i 8.5.3.

9.1.4 Experiment har visat att det föreligger ett linjärt samband mellan den relativa retentionstiden för topp III, dvs. $RRT_{III}[5]$ och procentsatsen tillsatt vasslepulver upp till 10 %.

— $RRT_{III}[E]$ är < 1,000 när halten vassle är > 5 %;

— $RRT_{III}[E]$ är ≥ 1,000 när halten vassle är ≤ 5 %.

Den tillåtna osäkerheten för värdena på RRT_{III} är ± 0,002.

Normalt avviker värdet på $RRT_{III}[0]$ endast litet från 1,034. Beroende på kolonnernas skick kan värdet närma sig 1,000 men måste alltid vara större.

9.2 *Beräkning av procentsatsen vasslepulver i provet*

$W = S_{III}[E] - [1,3 + (S_{III}[0] - 0,9)]$

där:

W = procentsatsen m/m vassle i provet [E];

$S_{III}[E]$ = den relativa arean av topp III i provet [E] som erhållits i 9.1.2;

1,3 = den relativa medelarean av topp III uttryckt i g vassle per 100 g bestämd i oförfalskat skummjölkspulver av olika ursprung. Siffran har erhållits empiriskt;

$S_{III}[0]$ = den relativa arean av topp III som är lika med $R_{III} \times A_{III}[0]$. Dessa värden har erhållits i 9.1.1 respektive 8.5.3;

$S_{III}[0]$-0,9 = den korrigering av den relativa medelarean 1,3 som skall göras när $S_{III}[0]$ ej är lika med 0,9. Empiriskt är den relativa medelarean av topp III för kontrollprovet [0] lika med 0,9.

9.3 *Metodens noggrannhet*

9.3.1 Repeterbarhet

Skillnaden mellan resultaten av två analyser som samtidigt eller med kort tidsintervall utförts av samma person med användning av samma utrustning på identiskt lika prover får inte överstiga 0,2 % m/m.

9.3.2 Reproducerbarhet

Skillnaden mellan två enstaka och av varandra oberoende resultat erhållna från två identiskt lika prover i två skilda laboratorier får inte överstiga 0.4 % m/m.

9.4 *Tolkning*

9.4.1 Vassle förekommer inte om den relativa arean av topp III, $S_{III}[E]$ uttryckt i g vassle per 100 g av produkten är $\leq 2{,}0 + (S_{III}[0] - 0.9)$.

där

2,0	är det maximalt tillåtna värdet på den relativa arean av topp III med hänsyn tagen till den relativa arean av topp III, dvs. 1,3, osäkerheten på grund av variationer i skummjölkspulvrets sammansättning och metodens reproducerbarhet (9.3.2).
$(S_{III}[0] - 0{,}9)$	är den korrigering som skall göras då arean $S_{III}[0]$ avviker från 0,9 (se punkt 9.2).

9.4.2 Om den relativa arean av topp III, $S_{III}[E]$, är $> 2{,}0\ (S_{III}[0] - 0{,}9)$ och den relativa arean av topp II, $S_{II}[E]$, är ≤ 160, bestäm vasslehalten i enlighet med punkt 9.2.

9.4.3 Om den relativa arean av topp III, $S_{III}[E]$, är $> 2{,}0 + (S_{III}[0] - 0{,}9)$ och den relativa arean av topp II, $S_{II}[E]$, är ≤ 160, bestäm det sammanlagda proteininnehållet (P%); undersök sedan figur 1 och 2.

9.4.3.1 Data som erhållits efter analys av prover av oförfalskat skummjölkspulver med högt sammanlagt proteininnehåll har sammanförts i figur 1 och 2.

Den heldragna linjen representerar den linjära regressionen, för vilken koefficienterna beräknas enligt minsta kvadratmetoden.

Den streckade räta linjen bestämmer den övre gränsen för den relativa arean av topp III med en sannolikhet att inte överskridas i 90% av fallen.

Ekvationerna för de streckade räta linjerna i figur 1 och 2 är:

$S_{III} = 0{,}376\ P\% - 10{,}7$ (figur 1),

$S_{III} = 0{,}0123\ S_{II}[E] + 0{,}93$ (figur 2)

där:

S_{III}	är den relativa arean av topp III beräknad antingen enligt det totala proteininnehållet eller enligt den relativa arean av topp $S_{II}[E]$,
P%	är det totala proteininnehållet uttryckt som viktprocent,
$S_{II}[E]$	är den relativa arean av provet beräknad i punkt 9.1.2.

Dessa ekvationer är ekvivalenta med siffran 1,3 som nämns i punkt 9.2.

Avvikelsen (T_1 och T_2) mellan den funna relativa arean $S_{III}[E]$ och den relativa arean S_{III} erhålls enligt nedan:

$T_1 = S_{III}[E] - [(0{,}376\ P\% - 10{,}7) + (S_{III}[0] - 0{,}9)]$

$T_2 = S_{III}[E] - [(0{,}0123\ S_{II}[E] + 0{,}93) + (S_{III}[0] - 0{,}9)]$

9.4.3.2 Om T_1 eller T_2 är noll eller mindre än noll, kan förekomst av vassle inte fastställas.

Om T_1 och T_2 överstiger noll förekommer vassle.

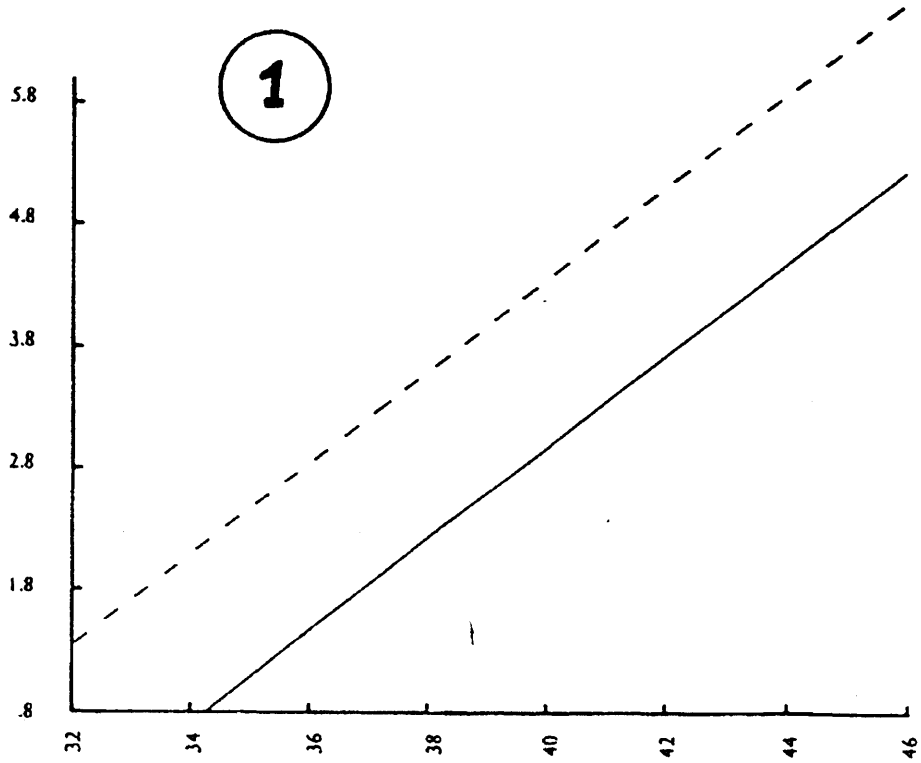
Halten vassle beräknas enligt följande formel:

$$W = T_2 + 0{,}91$$

där

0,91 är avståndet på den vertikala axeln mellan heldragen rät linje och streckad rät linje."

SKUMMJÖLKSPULVER



SKUMMJÖLKSPULVER

