VERORDENING (EEG) Nr. 3711/86 VAN DE COMMISSIE

van 4 december 1986

tot wijziging van Verordening (EEG) nr. 625/78 houdende uitvoeringsbepalingen voor de openbare opslag van magere-melkpoeder

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Economische Gemeenschap,

Gelet op Verordening (EEG) nr. 804/68 van de Raad van 27 juni 1968 houdende een gemeenschappelijke ordening der markten in de sector melk en zuivelprodukten (1), laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EEG) nr. 1335/86 (2), en met name op artikel 7, lid 5,

Overwegende dat in artikel 3 van Verordening (EEG) nr. 1014/68 van de Raad van 20 juli 1968 houdende vaststelling van de algemene voorschriften betreffende de openbare opslag van magere-melkpoeder (3), laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EEG) nr. 1272/79 (4), is bepaald dat de interventieprijs geldt voor magere-melkpoeder dat wordt geleverd aan het pakhuis dat is gelegen op een nader vast te stellen maximumafstand van de plaats waar het magere-melkpoeder was opgeslagen ; dat, indien het pakhuis waaraan het magere-melkpoeder wordt geleverd, op een grotere afstand ligt dan deze maximumafstand, de forfaitair vast te stellen extra vervoerkosten door het interventiebureau worden gedragen ;

Overwegende dat de betrokken maximumafstand bij Verordening (EEG) nr. 625/78 van de Commissie (5), laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EEG) nr. 2256/86 (6), is vastgesteld op 100 km ; dat de ervaring heeft geleerd dat deze maximumafstand te klein is om de interventiebureaus in staat te stellen het beheer ten aanzien van de aanvoer naar de openbare pakhuizen onder de best mogelijke omstandigheden te voeren ; dat deze afstand derhalve tot 350 km dient te worden vergroot ;

Overwegende dat in punt 2 van bijlage I van Verordening (EEG) nr. 625/78, welke bijlage betrekking heeft op de kwaliteit van het magere-melkpoeder, de controlemethoden voor het onderzoek op bepaalde produkten zijn vastgesteld ; dat het wenselijk is daarbij ook naar de internationale normen inzake bemonstering te verwijzen ;

Overwegende dat in bijlage IV bij Verordening (EEG) nr. 625/78 de methode is vastgesteld voor de bepaling van de hoeveelheid vrij sialinezuur ten behoeve van het onderzoek op lebwei in magere-melkpoeder dat bestemd is voor openbare opslag ; dat deze methode tijdelijk werd gebruikt, namelijk tot en met 31 maart 1986 ; dat de genoemde bijlage derhalve dient te worden ingetrokken ;

Overwegende dat het Comité van beheer voor melk en zuivelprodukten geen advies heeft uitgebracht binnen de door zijn voorzitter bepaalde termijn,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD :

Artikel 1

Verordening (EEG) nr. 625/78 wordt als volgt gewijzigd :

1. In artikel 5, lid 1, wordt voor „100 km" gelezen : „350 km".

2. In bijlage I, punt 2, onder a), wordt voor „ISO-norm" telkens gelezen : „Internationale Norm ISO".

3. Bijlage I, punt 2, onder b), tweede streepje, wordt gelezen :

   „lebwei :

   bepaling van de hoeveelheid glycomacropeptiden met behulp van hogedrukvloeistofchromatografie (3)".

4. Aan bijlage I, punt 2, wordt het volgende punt c) toegevoegd :

   „c) De monsters worden genomen op de in de Internationale Norm ISO 707 beschreven wijze ; de Lid-Staten kunnen evenwel een andere bemonsteringsmethode gebruiken voor zover deze in overeenstemming is met de beginselen die aan de genoemde norm ten grondslag liggen.".

5. In bijlage I vervalt voetnoot (4).

6. Bijlage IV vervalt.

7. Bijlage V wordt vervangen door de bijlage bij deze verordening.

Artikel 2

Deze verordening treedt in werking op de dag van haar bekendmaking in het *Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen.*

De punten 4 en 7 van artikel 1 zijn van toepassing met ingang van 2 februari 1987.

(1) PB nr. L 148 van 28. 6. 1968, blz. 13.
(2) PB nr. L 119 van 8. 5. 1986, blz. 19.
(3) PB nr. L 173 van 22. 7. 1968, blz. 4.
(4) PB nr. L 161 van 29. 6. 1979, blz. 11.
(5) PB nr. L 84 van 31. 3. 1978, blz. 19.
(6) PB nr. L 196 van 18. 7. 1986, blz. 41.

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in elke Lid-Staat.

Gedaan te Brussel, 4 december 1986.

Voor de Commissie

Frans ANDRIESSEN

Vice-Voorzitter

BIJLAGE

„BIJLAGE V

OPSPORING VAN LEBWEI IN MAGERE-MELKPOEDER BESTEMD VOOR OPENBARE OPSLAG DOOR BEPALING VAN GLYCOMACROPEPTIDEN MET BEHULP VAN HOGEDRUKVLOEISTOFCHROMATOGRAFIE (HPLC)

1. **Doel en toepassingsgebied**

Met deze methode kan de aanwezigheid van lebwei in magere-melkpoeder, bestemd voor openbare opslag, worden aangetoond door middel van de bepaling van glycomacropeptiden.

2. **Referenties**

Internationale Norm ISO 707 — Melk en zuiveiprodukten — Monstermethoden, overeenkomstig de in bijlage I, punt 2, sub c), laatste alinea, vermelde voorschriften.

3. **Definitie**

Gehalte aan glycomacropeptiden in magere-melkpoeder: het gehalte aan bestanddelen, bepaald volgens onderstaande methode en uitgedrukt in massaprocenten.

4. **Beginsel**

— reconstitutie van het magere-melkpoeder, verwijdering van vetten en eiwitten door neerslaan met trichloorazijnzuur en afcentrifugeren;

— bepaling van de hoeveelheid glycomacropeptiden (GMP) in het supernatant met behulp van hogedrukvloeistofchromatografie (HPLC);

— beoordeling van het verkregen resultaat aan de hand van standaardmonsters bestaande uit magere-melkpoeder waaraan al dan niet een bekend percentage weipoeder is toegevoegd.

5. **Reagentia**

Alle reagentia dienen van analysekwaliteit te zijn. Onder water wordt verstaan gedistilleerd water of water van ten minste dezelfde zuiverheid.

5.1. *Trichloorazijnzuuroplossing*

Los 240 g trichloorazijnzuur (Cl_3CCOOH) op in water en vul aan tot 1 000 ml.

5.2. *Loopvloeistof, pH 6,0*

In ongeveer 700 ml water wordt 1,74 g dikaliumfosfaat (K_2HPO_4), 12,37 g monokaliumfosfaat (KH_2PO_4) en 21,41 g natriumsulfaat (Na_2SO_4) opgelost. Zo nodig wordt de pH met een fosforzuuroplossing dan wel met een kaliumhydroxideoplossing op 6,0 gebracht. De oplossing wordt met water tot 1 000 ml aangevuld en gehomogeniseerd. Vóór gebruik wordt de loopvloeistof door een membraanfilter met poriëngrootte van 0,45 µm gefiltreerd.

5.3. *Oplossing voor het spoelen en conserveren van de kolommen*

1 deel acetonitril (CH_3CN) wordt met 9 delen water gemengd. Vóór gebruik wordt het mengsel over een membraanfilter met poriëngrootte van 0,45 µm gefiltreerd.

Opmerking: Voor het spoelen van de kolom kan elke andere oplossing worden gebruikt die een bacteriëndodende werking heeft en het scheidend vermogen van de kolom niet aantast.

5.4. *Standaardmonsters*

5.4.1. Magere-melkpoeder dat voldoet aan de eisen van Verordening (EEG) nr. 625/78, of wel [0].

5.4.2. Hetzelfde magere-melkpoeder dat is vermengd met 5 % (m/m) weipoeder type leb van gemiddelde samenstelling, of wel [5].

6. **Apparatuur**

6.1. Analytische balans.

6.2. Centrifuge, centrifugaalkracht tot 2 200 g, voorzien van centrifugebuizen met stop met een inhoud van ongeveer 25 ml.

6.3. Mechanisch schudapparaat.

6.4. Magneetroerder.

6.5. Glazen trechters, doorsnede ongeveer 7 cm.

6.6. Filtreerpapier, normaal, doorsnede ongeveer 12,5 cm.

6.7. Glazen filtreerapparaat met filtermembraan met poriëngrootte van 0,45 µm.

6.8. Meetpipet geschikt voor 10 ml, overeenkomstig ISO-648 norm, klasse A, of ISO/R 835.

6.9. Waterbad met thermostaat, ingesteld op 25 ± 0,5 °C.

6.10. HPLC-apparatuur bestaande uit :

6.10.1. Pomp ;

6.10.2. Injector, al of niet automatisch, capaciteit 15 tot 30 µl ;

6.10.3. Twee kolommen TSK 2000 SW (lengte 30 cm, inwendige doorsnede 0,75 cm) of gelijkwaardige kolommen in serie en een voorgeschakelde kolom (3 cm × 0,3 cm) gepakt met I 125 of gelijkwaardig materiaal ;

6.10.4. Kolomoven met thermostaat, ingesteld op 35 ± 1 °C ;

6.10.5. UV-detector met variabele golflengte, instelbaar op 205 nm, en een gevoeligheid van 0,008 A ;

6.10.6. Integrator waarmee van dal tot dal kan worden geïntegreerd.

Opmerking : Zo nodig kan met kolommen op kamertemperatuur worden gewerkt, maar het scheidend vermogen daarvan is iets lager. In dergelijke gevallen mogen de temperatuurschommelingen binnen een analyseserie niet meer dan ± 5 °C bedragen.

7. **Monsterneming**

7.1. Internationale Norm ISO 707 — Melk en zuivelprodukten — Monstermethoden, overeenkomstig de in de laatste alinea, onder 2 c), van bijlage I vermelde voorschriften.

7.2. Het monster wordt zodanig bewaard dat geen bederf of wijziging van samenstelling kan optreden.

8. **Werkwijze**

8.1. *Bereiding van het testmonster*

Het melkpoeder wordt overgebracht in een vat met een inhoud van ongeveer het dubbele van het volume van het poeder, voorzien van een luchtdicht deksel. Het vat wordt onmiddellijk gesloten. Meng het melkpoeder grondig door herhaald omkeren van het vat.

8.2. *Testhoeveelheid*

In een centrifugebuis (6.2) wordt 2,000 g testmonster tot op ca. 0,001 g afgewogen.

8.3. *Verwijdering van vetten en eiwitten*

8.3.1. Voeg aan de testhoeveelheid 20,0 g warm water (50 °C) toe. Los het poeder op door gedurende vijf minuten te schudden op het schudapparaat (6.3). Breng de buis op 25 °C.

8.3.2. In twee minuten wordt onder magnetisch roeren (6.4) 10,0 ml trichloorazijnzuuroplossing (5.1) toegevoegd. De buis wordt vervolgens gedurende 1 uur in het waterbad (6.9) gehouden.

8.3.3. De buis wordt 10 min bij 2 200 g gecentrifugeerd (6.2). In plaats daarvan kan worden gefiltreerd door papier (6.6), waarbij de eerste 5 ml filtraat wordt weggeworpen.

8.4. *Chromatografische bepaling*

8.4.1. Bij een snelheid van 1,0 ml loopvloeistof (5.2) per minuut wordt in het HPLC-apparaat (6.10) een nauwkeurig afgemeten hoeveelheid tussen 15 en 30 µl van de bovenstaande vloeistof of het filtraat (8.3.3) geïnjecteerd.

Opmerkingen :

1. De temperatuur van de loopvloeistof (5.2) wordt gedurende de gehele chromatografische analyse op 85 °C gehouden om de vloeistof te ontgassen en bacteriegroei te voorkomen. Andere maatregelen met hetzelfde effect mogen ook worden toegepast.
2. Bij elke onderbreking worden de kolommen met water gespoeld. De kolommen mogen nooit met de loopvloeistof (5.2) blijven staan.

Voordat de apparatuur langer dan 24 uur buiten gebruik wordt gesteld, worden de kolommen eerst met water en vervolgens gedurende ten minste drie uur met een snelheid van 0,2 ml per minuut met de wasoplossing (5.3) gespoeld.

8.4.2. De resultaten van de chromatografische analyse van het testmonster [E] worden verkregen in de vorm van een chromatogram, waarin elke piek wordt geïdentificeerd door zijn retentietijd en wel :

piek II : tweede piek van het chromatogram met een RT van ongeveer 12,5 min,

piek III : derde piek van het chromatogram overeenkomend met de GMP, met een RT van 15,5 ± 1,0 min,

piek IV : vierde piek van het chromatogram met een RT van ongeveer 17,5 min.

De kwaliteit van de kolommen is van invloed op de verschillende retentietijden.

De integrator (6.10.6) rekent de oppervlakte A van elke piek automatisch uit :

A_{II} : oppervlakte van piek II,

A_{III} : oppervlakte van piek III,

A_{IV} : oppervlakte van piek IV.

Om eventuele onregelmatigheden als gevolg van slecht werkende apparatuur of kolommen, dan wel als gevolg van de herkomst of de gesteldheid van het geanalyseerde monster op te sporen, moet, voordat tot kwantitatieve interpretatie wordt overgegaan, worden nagegaan of het algemene beeld van het chromatogram klopt. In geval van twijfel wordt de analyse herhaald.

8.5. *Ijking*

8.5.1. Op de standaardmonsters (5.4) wordt nauwgezet de werkwijze van 8.2 t/m 8.4.2 toegepast.

Er worden versbereide oplossingen gebruikt omdat de GMP in 8 % trichloorazijnzuur niet stabiel zijn : het gehalte loopt namelijk per uur bij 30 °C met ongeveer 0,2 % terug.

8.5.2. Voorafgaand aan de chromatografische bepaling van de monsters worden de kolommen geconditioneerd door herhaald inspuiten van de oplossing (8.5.1) van het standaardmonster (5.4.2) totdat de oppervlakte en de retentietijd van de GMP-piek constant zijn.

8.5.3. De responsfactoren R worden bepaald door injectie van hetzelfde volume filtraat (8.5.1) als er van de monsters wordt geïnjecteerd.

9. Weergave van de resultaten

9.1. *Berekeningswijze en formules*

9.1.1. Berekening van de responsfactoren R :

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

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

waarin :

R_{II} en R_{IV} = respectievelijk de responsfactoren voor de pieken II en IV,

A_{II} [0] en A_{IV} [0] = respectievelijk de oppervlakten voor de pieken II en IV van het standaardmonster [0] verkregen bij 8.5.3 ;

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

waarin :

R_{III} = de responsfactor voor piek III,

A_{III} [0] en A_{III} [5] = respectievelijk de oppervlakten van piek III in de standaardmonsters [0] en [5] verkregen bij 8.5.3,

W = de hoeveelheid wei aanwezig in het standaardmonster [5] of wel 5.

9.1.2. Berekening van de relatieve oppervlakten van de pieken van het monster [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]

waarin :

S_{II} [E], S_{III} [E], S_{IV} [E] = respectievelijk de relatieve oppervlakten van de pieken II, III en IV van het monster [E],

A_{II} [E], A_{III} [E], A_{IV} [E] = respectievelijk de oppervlakten van de pieken II, III en IV van het monster [E] verkregen bij 8.4.2,

R_{II}, R_{III}, R_{IV} = respectievelijk de responsfactoren berekend bij 9.1.1.

9.1.3. Berekening van de relatieve retentietijd van piek III van het monster [E]:

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

waarin :

RRT_{III} [E] = de relatieve retentietijd van piek III van het monster [E],

RT_{III} [E] = de retentietijd van piek III van het monster [E], verkregen bij 8.4.2,

RT_{III} [5] = de retentietijd van piek III van het standaardmonster [5], verkregen bij 8.5.3.

9.1.4. Experimenteel is aangetoond dat er tussen de relatieve retentietijd van piek III, of wel RRT_{III} [E], en het toegevoegde percentage weipoeder tot 10 % een rechtlijnig verband bestaat :

— bij een gehalte < 5 %, is RRT_{III} [E] $> 1{,}000$;

— bij een gehalte $\geqslant 5$ %, is RRT_{III} [E] $\leqslant 1{,}000$.

De toegestane onzekerheid voor de waarde RRT_{III} is $\pm$ 0,002.

Doorgaans verschilt de waarde van RRT_{III} [0] weinig van 1,034. Naar gelang van de toestand van de kolommen kan deze waarde in de richting van 1,000 gaan, maar zij moet daar wel altijd boven blijven.

9.2. *Bereken het percentage lebweipoeder in het monster uit :*

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

waarin :

W = het massapercentage lebwei in het monster [E],

S_{III} [E] = het relatieve oppervlak van piek III van het monster [E], verkregen in 9.1.2,

1,3 = het gemiddelde relatieve oppervlak van piek III, uitgedrukt in g wei per 100 g, bepaald in onverdachte magere-melkpoeders van verschillende herkomst. Deze waarde is experimenteel vastgesteld,

S_{III} [0] = het relatieve oppervlak van piek III dat gelijk is aan $R_{III} \times A_{III}$ [0]. Deze waarden zijn verkregen respectievelijk in 9.1.1 en 8.5.3,

$(S_{III}\ [0] - 0{,}9)$ = de aan te brengen correctie voor het gemiddelde relatieve oppervlak van 1,3 indien de waarde S_{III} [0] afwijkt van 0,9. Het gemiddelde relatieve oppervlak van piek III van standaardmonster [0] is experimenteel vastgesteld op 0,9.

9.3. *Nauwkeurigheid van de methode*

9.3.1. Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de resultaten van twee bepalingen gelijktijdig of kort na elkaar door dezelfde persoon met dezelfde apparatuur op hetzelfde monster verkregen, mag niet groter zijn dan 0,2 % m/m.

9.3.2. Reproduceerbaarheid

Het verschil tussen twee afzonderlijke en onafhankelijke resultaten verkregen door twee verschillende laboratoria op hetzelfde monster mag niet groter zijn dan 0,4 % m/m.

9.4. *Interpretatie*

9.4.1. Wei wordt geacht afwezig te zijn indien het relatieve oppervlak van piek III, S_{III} [E], uitgedrukt in gram lebwei per 100 gram, $\leq 2{,}0 + (S_{III}\ [0] - 0{,}9)$ is,

waarin :

2,0 = de maximaal toelaatbare waarde voor het relatieve oppervlak van piek III, rekening houdende met het relatieve oppervlak van piek III, zijnde 1,3, met de onzekerheid veroorzaakt door de variatie in de samenstelling van magere-melkpoeders, en met de reproduceerbaarheid van de methode (9.3.2),

$(S_{III}\ [0] - 0{,}9)$ = de aan te brengen correctie indien de waarde van S_{III} [0] afwijkt van 0,9 (zie 9.2).

9.4.2. Wanneer het relatieve oppervlak van piek III, S_{III} [E] $> 2{,}0 + (S_{III}\ [0] - 0{,}9)$ is en het relatieve oppervlak van piek II, S_{II} [E] ≤ 160 is, bepaal dan het lebweigehalte zoals aangegeven in 9.2.

9.4.3. Wanneer het relatieve oppervlak van piek III, S_{III} [E] $> 2{,}0 + (S_{III}\ [0] - 0{,}9)$ is en het relatieve oppervlak van piek II, S_{II} [E] > 160 is, bepaal dan het totaal eiwitgehalte (P %); daarna de grafieken 1 en 2 bestuderen.

9.4.3.1. De resultaten van de ontleding van de monsters magere-melkpoeder van goede kwaliteit en met een hoog totaal eiwitgehalte, worden weergegeven in de grafieken 1 en 2.

De volle lijn stelt de lineaire regressielijn voor, waarvan de coëfficiënten worden berekend aan de hand van de methode van de kleinste kwadraten.

De streeplijn is de bovengrens van het relatieve oppervlak van piek III (waarschijnlijkheidsdrempel 90 %).

De respectieve vergelijkingen van de streeplijnen in de grafieken 1 en 2 zijn :

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

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

waarin :

S_{III} = het relatieve oppervlak van piek III, berekend aan de hand van het totaal eiwitgehalte van het relatieve oppervlak van piek $_{II}$ [E],

P % = totaal eiwitgehalte, uitgedrukt in gewichtspercenten,

S_{II} [E] = het in punt 9.1.2 berekende relatieve oppervlak van het monster.

Deze vergelijkingen zijn gelijkwaardig met het in 9.2 vermelde getal 1,3.

De afwijking (T_1 en T_2) tussen het relatieve oppervlak S_{III} [E] en het relatieve oppervlak S_{III} wordt weergegeven door de volgende betrekkingen :

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

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

9.4.3.2. Wanneer T_1 en/of T_2 negatief of gelijk aan nul zijn, kan de aanwezigheid van lebwei niet worden vastgesteld ;

Wanneer T_1 en T_2 positief zijn, dan is lebwei aanwezig.

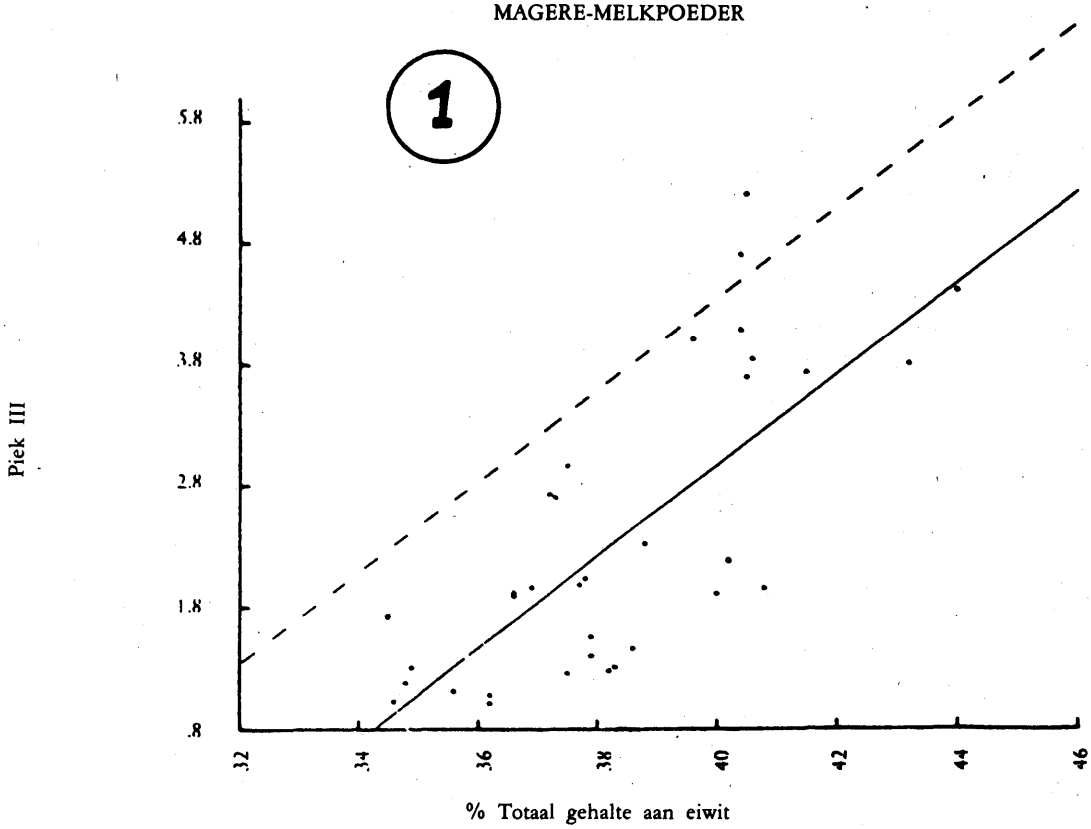
De hoeveelheid lebwei wordt berekend aan de hand van de volgende formule :

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

waarin :

0,91 de afstand op de verticale as tussen de volle en de streeplijn weergeeft.

MAGERE-MELKPOEDER



MAGERE-MELKPOEDER

