KOMMISSIONENS FÖRORDNING (EG) nr 322/96

av den 22 februari 1996

om tillämpningsföreskrifter för offentlig lagring av skummjölkspulver

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska 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 kommissionens förordning (EG) nr 2931/95 [2], särskilt artiklarna 7.5 och 28 i denna, och

med beaktande av följande:

Rådets förordning (EEG) nr 1014/68 av 20 juli 1968 om allmänna bestämmelser för offentlig lagring av skummjölkspulver [3], senast ändrad genom förordning (EEG) nr 3577/90 [4], skall från och med den 1 mars 1996 upphävas genom rådets förordning (EG) nr 1538/95 [5]. Det är följaktligen nödvändigt att införa de bestämmelser som inte återfinns i förordning (EEG) nr 804/68 i de tillämpningsföreskrifter för offentlig lagring av skummjölksprodukter som föreskrivs genom kommissionens förordning (EEG) nr 625/78 [6], senast ändrad genom förordning (EG) nr 1802/95 [7]. Vikten av kommande anpassning och de många ändringarna som denna förordning redan varit föremål för gör en omarbetning av den nödvändig för att skapa klarhet och begriplighet. Det är följaktligen nödvändigt att upphäva förordning (EEG) nr 625/78.

Endast skummjölk som har en minsta uppmätt proteinhalt kan köpas upp av interventionsorganen och inköpspriset kan variera med proteinhalten. Det är nödvändigt att bestämma den analysmetod som skall användas för att mäta den berörda halten och att bestämma hur inköpspriset skall räknas ut.

För att säkerställa att ingen betalning för uppköpt skummjölk skett otillbörligt, är det nödvändigt att kontrollera att hänsyn tagits till alla ställda villkor och att proteinhalten fastställs innan betalning sker.

En analysmetod för att spåra kärnmjölk har utvecklats. För att säkerställa en enhetlig tillämpning av kontrollåtgärderna, bör denna analysmetod användas för att kunna kontrollera det skummjölkspulver som köpts in av interventionsorganen.

Rådets direktiv 92/46/EEG av 16 juni 1992 om fastställandet av hygienregler för produktion och utsläppande på marknaden av rå mjölk, värmebehandlad mjölk och mjölkbaserade produkter [8], senast ändrat genom direktiv 94/71/EG [9], föreskriver att den mjölk som innehåller en halt bakteriedödande medel som övergår den nivå som tillåts genom rådets förordning (EEG) nr 2377/90 [10], senast ändrad genom förordning (EG) nr 282/96 [11], inte får användas som livsmedel. Det är lämpligt att kontrollera det skummjölkspulver som köpts upp av interventionsorganen vad beträffar de bakteriedödande medel som för närvarande används. Det är nödvändigt att föreskriva en kontrollmetod för det ändamålet.

För övrigt har de bestämmelser som avser offentlig lagring av skummjölkspulver prövats och kan efter vissa justeringar av teknisk art bibehållas.

Den avgörande faktorn för den jordbruksomräkningskurs som tillämpas för systemet med offentlig lagring fastställs i kommissionens förordning (EEG) nr 1756/93 [12], senast ändrad genom förordning (EG) nr 693/95 [13].

De åtgärder som föreskrivs i denna förordning är förenliga med yttrandet från Förvaltningskommitttén för mjölk och mjölkprodukter.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

1. Interventionsorganen skall endast köpa upp skummjölkspulver som motsvarar definitionen i artikel 7.1 i förordning (EEG) nr 804/68 och kvalitetskraven i bilaga I och som uppfyller följande villkor:

a) Kvalitetskontrollen har genomförts enligt de analysmetoder som anges i bilagorna I, V, VI och VII på grundval av de prover som uttagits enligt det förfarande som anges i bilaga IV.

[1] EGT nr L 148, 28.6.1968, s. 13.
[2] EGT nr L 307, 20.12.1995, s. 10.
[3] EGT nr L 173, 22.7.1968, s. 4.
[4] EGT nr L 353, 17.12.1990, s. 23.
[5] EGT nr L 148, 30.6.1995, s. 17.
[6] EGT nr L 84, 31.3.1978, s. 19.
[7] EGT nr L 174, 26.7.1995, s. 27.
[8] EGT nr L 268, 14.1.1992, s. 1.
[9] EGT nr L 368, 31.12.1994, s. 33.
[10] EGT nr L 224, 18.8.1990, s. 1.
[11] EGT nr L 37, 15.2.1996, s. 9.
[12] EGT nr L 161, 2.7.1993, s. 48.
[13] EGT nr L 71, 31.3.1995, s. 52.

b) De villkor som anges i bilagorna II och III beträffande förpackning och märkning har respekterats.

c) Skummjölkspulvret innehåller inte andra produkter, särskilt inte kärnmjölk eller vassle.

d) Tillverkningen har skett under loppet av en månad före den dag då interventionsorganet mottagit anbudet eller, i det fall som avses i bilaga III punkt e andra meningen fyra veckor från den vecka då anbudet mottagits.

e) Produkten innehåller inte radioaktivitet överstigande de högsta tillåtna nivåerna enligt gemenskapsbestämmelserna.

De nivåer som gäller för produkter med ursprung i gemenskapen fastställs i artikel 3 i rådets förordning (EEG) nr 737/90 [1]. Kontrollen av halten radioaktivitet i produkten utförs bara om situationen kräver det och under nödvändig tidsperiod. Vid behov fastställs kontrollåtgärdernas varaktighet och räckvidd enligt förfarandet i artikel 30 i förordning (EEG) nr 804/68.

2. I denna förordning avses med

a) *kärnmjölk:* den biprodukt som erhålls vid framställning av smör efter kärning av grädden och avskiljning av det fasta fettet,

b) *vassle:* den biprodukt som erhålls vid framställning av ost eller kasein genom försurning, löpe eller kemisk behandling.

3. Den minsta kvantiteten på anbudet är 20 ton. Medlemsstaterna kan höja minimikvantiteten eller föreskriva att skummjölkspulvret skall säljas per ton.

4. Interventionsorganet skall registrera dagen för mottagandet av anbudet, mottagna kvantiteter och produktionsdatum, samt platsen där det berörda skummjölkspulvret skall lagras.

5. Ett anbud är giltigt endast om det innehåller ett bevis på att anbudsgivaren lämnat en säkerhet på tolv ecu per ton offererat skummjölkspulver.

Inom ramen för denna förordning är de huvudsakliga kraven, vilka skall säkras genom säkerheten, att anbudet står fast och att skummjölkspulvret levereras till det lager som utsetts av interventionsorganet. Om det efter den kontroll som avses i punkt 1 a framkommer att skummjölkspulvret inte motsvarar kraven i punkt 1, skall säkerheten ändå ställas för de kvantiteter som ännu inte levererats.

Säkerheten skall frisläppas i den medlemsstat där anbudet lämnas in.

[1] EGT nr L 82, 29.3.1990, s. 1.

Artikel 2

1. Det företag som avses i artikel 7.1 i förordning (EEG) nr 804/68 skall godkännas endast om det

a) godkänts enligt artikel 10 i direktiv 92/46/EEG och förfogar över lämplig utrustning,

b) förbinder sig att löpande föra de register som fastställs av den behöriga myndigheten i varje medlemsstat, med angivande av råvarornas ursprung, kvantiteter skummjölkspulver, mängd behandlad kärnmjölk och vassle, typ av värmebehandling för skummjölk, erhållna produktkvantiteter, paketeringsform, identitet och sista dag för offentlig intervention för varje framställt parti skummjölkspulver, kärnmjölkspulver eller vassle i form av pulver,

c) samtycker till att låta den produktion av skummjölkspulver som kan komma att erbjudas till intervention undergå en särskild kontroll,

d) förbinder sig att minst två arbetsdagar i förväg underrätta det behöriga organ som ansvarar för kontrollen om sin avsikt att framställa skummjölkspulver för offentlig intervention. Medlemsstaten kan emellertid fastställa en kortare frist.

2. För att säkerställa att bestämmelserna i denna förordning efterlevs, skall de behöriga organen garantera oanmälda kontroller på plats med avseende på de berörda produktionsanläggningarnas planer för produktion av skummjölkspulver för intervention.

Dessa kontroller skall omfatta minst följande:

— En kontroll per period om 28 dagar av framställning för intervention och minst en gång per halvår, och då särskilt för granskning av de uppgifter som avses i punkt 1 b.

— En kontroll per halvår för att särskilt kontrollera att villkoren för det godkännande som avses i punkt 1 är uppfyllda.

3. Godkännandet skall dras in om de villkor som anges i punkt 1 inte är uppfyllda. På anmodan av det berörda företaget, får godkännandet utfärdas på nytt efter en period av minst sex månader efter en grundlig kontroll.

Om det konstateras att ett företag inte respekterat de krav som anges i punkt 1 b, c och d, och force majeure inte föreligger, dras godkännandet in för en period av en till tolv månader beroende på hur grov förseelsen är.

Medlemsstaten kan besluta att inte tillgripa påföljden i fråga om det kan fastställas att förseelsen inte varit avsiktlig eller uppstått genom grov försumlighet och att den är av mindre vikt för effektiviteten hos de kontroller som avses i punkt 2.

4. De kontroller som genomförs med stöd av punkterna 2 och 3 skall vara föremål för en rapport i vilken anges

— kontrolldag,

— kontrollens längd,

— de vidtagna åtgärderna.

Kontrollrapporten skall skrivas under av den ansvarige representanten.

5. Medlemsstaterna skall underrätta kommissionens om de åtgärder som vidtagits med avseende på de kontroller som föreskrivs i punkt 2 och 3 inom en månad räknat från den tidpunkt då de beslutades.

Artikel 3

De organ som svarar för kontrollen av att bestämmelserna i artikel 1.1 efterlevs, skall anteckna resultaten från analysen för varje parti som angivits i anbudet, där varje produkts karakteristika numreras enligt punkt 1 i bilaga I. Dessa uppgifter återges senare i det intyg som på förfrågan utfärdas för utbyte eller export mellan medlemsstater.

Artikel 4

1. Efter kontroll av anbudets uppgifter, skall interventionsorganet utan dröjsmål utfärda en leveransavi som är daterad och innehåller följande uppgifter:

a) Kvantiteten som skall levereras.

b) Sista datum för leverans av skummjölkspulvret.

c) Det lager dit leveransen skall ske.

2. Leveransen av skummjölkspulvret bör äga rum inom 28 dagar efter dagen för mottagandet av det anbud som avses i artikel 1.1 d. Leveransen får ske i etapper.

3. Enligt denna förordning skall interventionsorganet ta emot skummjölkspulvret samma dag som detta kommer till lagringsanläggningen, eller tidigast dagen efter utfärdandet av den leveransavi som avses i punkt 1.

4. Betalningen av det skummjölkspulver som interventionsorganet köpt upp skall ske mellan den 120:e och 140:e dagen efter mottagandet av skummjölkspulvret, om den kontroll som avses i artikel 1 genomförts.

5. Inköpspriset på skummjölkspulvret skall kalkyleras enligt följande:

— Om proteinhalten hos det fettfria torrextraktet som konstaterats enligt metoden i bilaga I är lika med eller högre än 35,6 %, skall inköpspriset vara lika med interventionspriset.

— Om denna halt är minst 31,4 % och lägre än 35,6 % är inköpspriset lika med interventionspriset minskat med en summa som räknas fram på följande sätt: interventionspriset × [(0,356 − proteinhalten) × 1,75].

6. Om det efter kontroll skulle visa sig att skummjölkspulvret inte motsvarar de krav som avses i artikel 1.1, är försäljaren genom sitt anbud skyldig att

— återta varan i fråga,

— återbetala lagringskostnaderna för de berörda kvantiteterna från dagen för mottagandet fram till utförandet.

Dessa lagringskostnader fastställs enligt en schablon per ton på följande sätt:

a) 21 ecu på fasta kostnader.

b) 0,10 ecu per lagringsdag för magasineringen.

Beloppen garanteras genom garantisektionen vid Europeiska utvecklings- och garantifonden för jordbruk (EUGFJ).

Artikel 5

1. De lager som avses i artikel 7.1 fjärde stycket i förordning (EEG) nr 804/68 bör uppfylla följande villkor:

a) Vara torra, väl underhållna och fria från ohyra.

b) Inte ha någon form av annorlunda lukt.

c) Ha god ventilation.

d) Ha en tillräcklig kapacitet och förfoga över en utrustning som motsvarar denna kapacitet.

De risker som är förbundna med lagring av skummjölkspulvret skall täckas av en försäkring i form av ett avtal med lagerhållaren, eller i form av en heltäckande försäkring som tecknats av interventionsorganet. Medlemsstaten får även uppträda som sin egen försäkringsgivare.

2. Interventionsorganen skall kräva att inlagringen och lagringen av skummjölkspulver sker på pallar på ett sådant sätt att partierna lätt kan identifieras och är lätt åtkomliga.

3. Det behöriga organ som ansvarar för kontrollen skall dessutom företa kontroller av befintligheten av produkterna i lager i enlighet med artikel 4 i kommissionen förordning (EEG) nr 618/90 [1].

Artikel 6

1. Interventionsorganen skall välja det lager som ligger närmast den plats där skummjölken lagras.

[1] EGT nr L 67, 15.3.1990, s. 21.

I den mån som valet av ett annat lager inte medför extra lagringskostnader, får dock organet

a) välja ett annat lager inom det avstånd som anges i punkt 2,

b) för längre avstånd än detta, välja ett annat lager om det valet leder till lägre kostnad, med hänsyn tagen till de berörda lagrings- och transportkostnaderna. I så fall skall interventionsorganet meddela kommissionen sitt val utan dröjsmål.

2. Det maximala avstånd som avses i artikel 7.1 tredje stycket i förordning (EEG) nr 804/68 fastställs till 350 km. För längre avstånd än detta skall de extra transportkostnader som interventionsorganet skall täcka vara 0,05 ecu per ton och km.

Om det uppköpande interventionsorganet lyder under en annan medlemsstat än den på vilkens territorium den erbjudna skummjölken lagras, skall dock avståndet mellan säljarens lager och gränsen till den medlemsstat i vilken den uppköpande interventionsorganet är beläget inte tas med i beräkningen av det maximala avstånd som avses i föregående stycke.

Artikel 7

Vid utlagringen skall interventionsorganet vid leverans från lageranläggningen tillhandahålla skummjölken

— lastad på transportmedel vid anläggningen, undantaget stuvning, om transporten sker med lastbil eller järnväg,

— vid lagerutfarten då annat transportmedel används, särskilt container.

Avgifter för stuvning och lossning åligger köparen av skummjölkspulvret. Dessa avgifter är fastställda enligt en schablon av medlemsstaten som informerar varje intressent på förfrågan.

Artikel 8

Förordning (EEG) nr 625/78 skall upphöra att gälla.

Hänvisningar till förordning (EEG) nr 625/78 skall anses som hänvisningar till denna förordning.

Artikel 9

Denna förordning träder i kraft den sjunde dagen efter offentliggörandet i *Europeiska gemenskapens officiella tidning.*

Den skall tillämpas från och med den 1 mars 1996.

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

Utfärdad i Bryssel den 22 februari 1996.

På kommissionens vägnar

Franz FISCHLER

Ledamot av kommissionen

BILAGA I

KVALITET AV SKUMMJÖLKSPULVER

1. **Karaktäristika:**

a) proteinhalt:	lägst 31,4 % av fettfri torrsubstans
b) fetthalt:	högst 1,00 %
c) vattenhalt:	högst 3,5 %
d) surhetsgrad mätt i milliliter av natriumhydroxidvätska:	högst 19,5 ml
e) laktathalt:	högst 150 mg/100 g
f) tillsatser:	inga
g) bevis på fosfatas:	negativt, dvs. lika med eller högst 4 µg fenol/gram mjölk
h) index på olöslighet:	högst 0,5 ml (24 °C)
i) halt av brända partiklar:	högst 15,0 mg, dvs. minst skiva B.
j) halt av mikroorganismer:	högst 40 000 per g.
k) mätning av kolibakterier:	negativt i 0,1 g.
l) mätning av kärnmjölk:	negativt
m) mätning av vassle:	negativt
n) smak och lukt:	neutral
o) utseende:	vit eller gulaktig, utan orenheter eller färgade partiklar
p) bakteriedödande medel:	inget (1)

2. **Kontrollmetoder:**

a) Utan att detta påverkar bestämmelserna om harmonisering av analysmetoder, är användningen av metoderna nedan ett krav vid tillämpningen av detta direktiv:

— proteindosering (N × 6,38)	internationell standard FIL 20B: 1993
— fettdosering	internationell standard FIL 9C: 1987
— vattendosering	internationell standard FIL 26A: 1993
— syradosering	internationell standard FIL 86: 1981
— laktatdosering	internationell standard FIL 69B: 1987
— bevis på fosfatas	internationell standard ISO 3356: 1975
— lösningsindex	internationell standard FIL 129A: 1988
— bestämning av halten brända partiklar	ADPI standardmetoder 1990
— räkning av mikroorganismer	internationell standard FIL 100B: 1991
— kontroll av kolibakterier	internationell standard FIL 73A: 1985

b) Vad beträffar kontroll av

— vasslelöpe:	dosering av glykomakropeptider vid högtrycksvätskekromatografi enligt analysmetoden i bilaga V,
— vasslesyra:	provet fastställs av medlemsstaterna,
— kärnmjölk:	frånvaro av kärnmjölk kan fastställas antingen genom en oanmäld kontroll på plats eller genom en laboratorieanalys — enligt metoden i bilaga VI — av slutprodukten med ett värde på högst 69,31 mg PEDP/100 g.
— bakteriedödande medel:	mäts enligt den metod som beskrivs i bilaga VII.

c) Provtagningen skall ske enligt det förfarande som föreskrivs enligt den internationella ISO-standarden 707, medlemsstaterna får dock använda en annan provtagningsmetod i det fall denna motsvarar principerna i den ovannämnda standarden.

---

(1) Färsk mjölk som används vid tillverkning av skummjölkspulver enligt de krav som föreskrivs i bilaga A kapitel III del D i direktiv 92/46/EEG.

BILAGA II

FÖRPACKNING

1. **Förpackningar**

Förpackningarna skall vara nya, torra och hela, och rymma ett nettoinnehåll på 25 kg och ha en sammansättning som motsvarar någon av följande beskrivningar:

a) 4 säckar i kraftpapper, med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 70 g per m^2,

1 mellansäck av tjärat papper, med hållbarhet motsvarande 140 g per m^2,

1 innersäck av polyetylen, med en tjocklek på minst 0,08 mm, igenlödd eller med dubbel hopsnörning.

b) 1 yttersäck av kraftpapper, med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 70 g per m^2,

1 säck av kraftpapper täckt med polyetylen, med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 80 g + 15 g per m^2,

3 säckar av kraftpapper, med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 70 g per m^2,

1 innersäck av polyetylen, med en tjocklek på minst 0,08 mm, igenlödd eller med dubbel hopsnörning.

c) 1 yttersäck av kraftpapper, med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 85 g per m^2,

1 säck av kraftpapper täckt med polyetylen, med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 70 g + 15 g per m^2,

2 säckar av kraftpapper med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 70 g per m^2,

1 innersäck i polyetylen, med en tjocklek på minst 0,12 mm igenlödd eller med dubbel hopsnörning.

d) 1 yttersäck av töjbart kraftpapper, med hållbarhet motsvarande en vikt på minst 95 g per m^2,

1 säck av töjbart kraftpapper med ett inre hölje av polyetylen, med hållbarhet motsvarande en vikt på 95 g + 15 g per m^2,

1 säck av töjbart kraftpapper, med en hållbarhet motsvarande en vikt på minst 85 g per m^2,

1 innersäck i polyetylen, med en tjocklek på minst 0,12 mm, igenlödd eller med dubbel hopsnörning.

2. **Fyllning**

Vid fyllningen bör påsen packas väl. Löst pulver får absolut inte tränga in mellan påsarnas olika skikt.

3. **Försöksförfarande**

En sådan förpackning som avses i punkt 1 bör kunna motsvara en genomsnittlig energiupptagningsförmåga motsvarande minst 420 joule/m^2 genom tre lager papper enligt ISO-metoden 1924-2-1985.

BILAGA III

MÄRKNING

På förpackningen skall minst följande uppgifter anges, i förekommande fall transkriberade i form av koder:

a) Benämningen "skummjölkspulver", på ett av gemenskapens språk.

b) Nettovikt.

c) Partiets tillverkningsnummer.

d) Godkännandenummer som definierar fabrik och producerande medlemsstat.

e) Tillverkningsdatum. Om skummjölkspulvret lagras i silor, skall tillverkningsdatumet ersättas med tillverkningsveckan.

BILAGA IV

PROVTAGNING OCH ANALYS AV DET OFFERERADE SKUMMJÖLKSPULVRET

1. Antal säckar som skall väljas ut slumpmässigt för provtagning:
   — Anbud som innehåller upp till 800 säckar på 25 kg: minst åtta.
   — Anbud som innehåller mer än 800 säckar på 25 kg: åtta plus minst ytterligare en för varje påbörjad mängd om 800 säckar.
2. Vikt på proverna: minst 200 g tas ur varje förpackning.
3. Provgrupper: högst nio prover samlas till en provtagning.
4. Analys av proverna: varje provgrupp underställs en analys för att kontrollera alla de kvalitativa karaktäristika som anges i bilaga I.
5. Riktlinjer att följa i fall ett prov uppvisar brister:
   a) om ett prov uppvisar brister i fråga om en parameter, skall hela den mängd som provmaterialet kommer ifrån avvisas.
   b) om ett prov uppvisar brister i fråga om flera parametrar, skall hela den mängd som provmaterialet kommer ifrån avvisas och från den resterande mängden från samma fabrik, skall ett andra avgörande urval prover tas. Därvid
      — skall antalet prover enligt punkt 1 fördubblas,
      — skall hela den mängd som provmaterialet kommer ifrån avvisas om ett prov uppvisar brister i fråga om en eller flera parametrar.

BILAGA V

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

1. Syfte och tillämningsområde

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 I.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 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 denna förordning (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 g, 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 2 000-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 nm med känsligheten 0,008 A.

6.10.6 Integrator som medger integrering av enskilda toppar.

Anmärkning: 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 I.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 omrörning 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.

Anmärkningar

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 på 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 åttaprocentig 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} × A_{II} [E]
S_{III} [E] = R_{III} × A_{III} [E]
S_{IV} [E] = R_{IV} × 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 II 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} [E] och procentsatsen tillsatt vasslepulver upp till 10 %.

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

Den tillåtna osäkerheten för värdena på RRT_{III} är $\pm$ 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 = representerar 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] = representerar den relativa arean av topp III som är lika med R_{III} × A_{III} [0]. Dessa värden har erhållits i 9.1.1 respektive 8.5.3,

(S_{III} [0] − 0,9) = representerar 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 i 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] $\leq$ 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] > 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 och/eller T_2 är noll eller mindre är noll, kan förekomst av vassle inte fastställas.

Om T_1 och T_2 överstiger noll förekommer vassle.

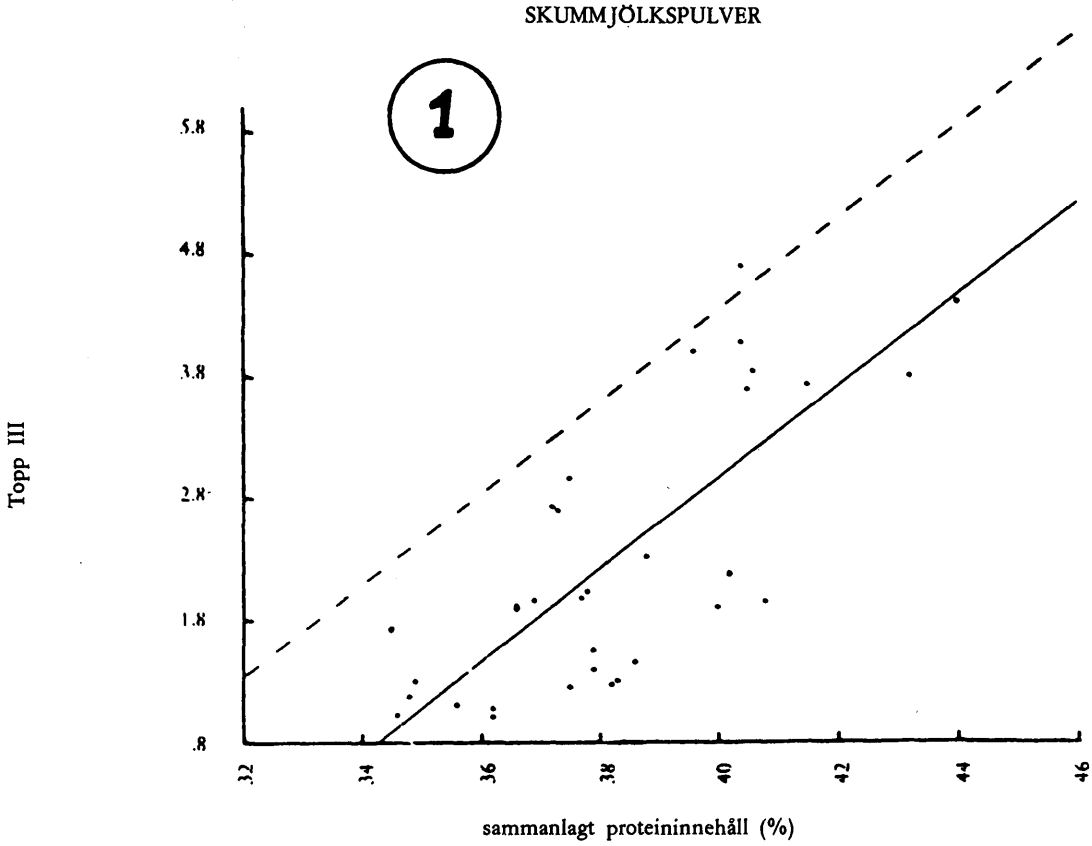
Halten vassle beräknas enligt följande formel:

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

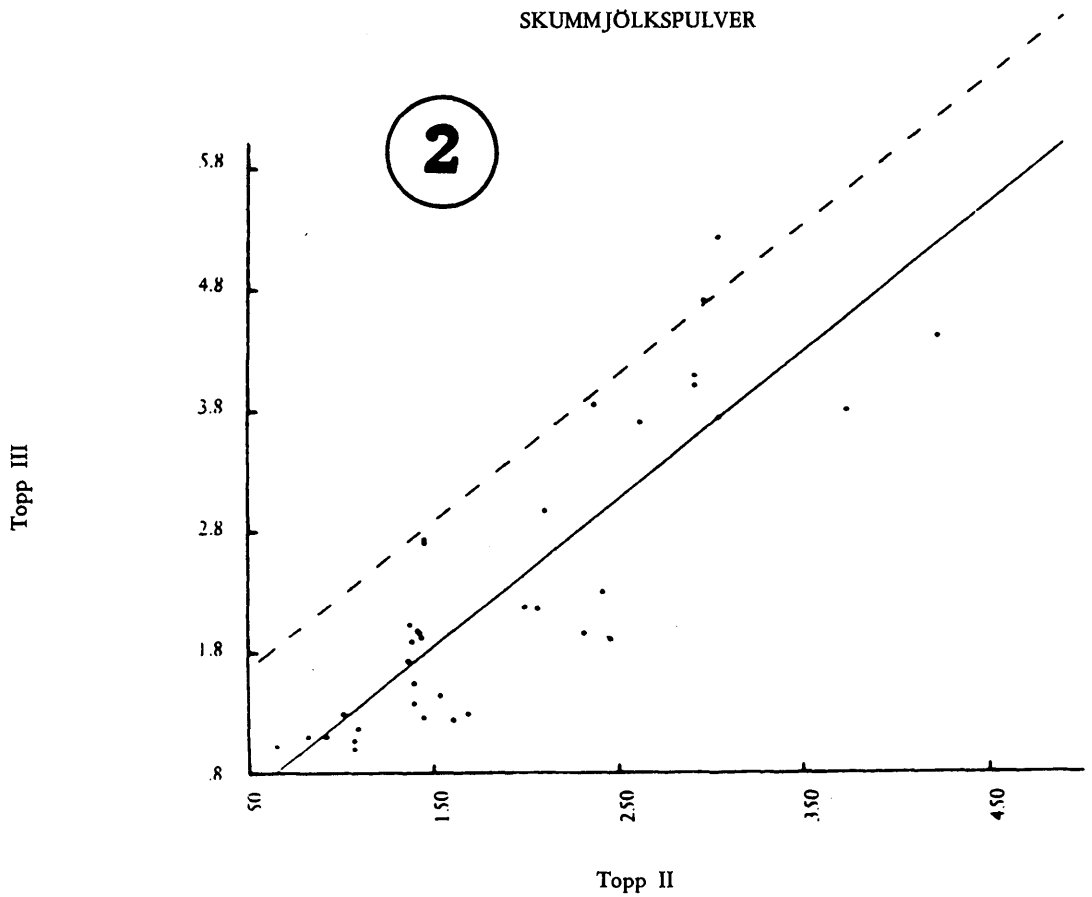
där

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

SKUMMJÖLKSPULVER



SKUMMJÖLKSPULVER



BILAGA VI

SKUMMJÖLKSPULVER: BESTÄMNING AV INNEHÅLLET FOSFATIDYLSERIN OCH FOSFATIDYLETANOLAMIN

HPLC-METODEN (OMVÄND FAS)

1. Omfattning och tillämpningsområde

Metoden beskriver ett förfarande för den kvantitativa bestämningen av fosfatidylserin (PS) och fosfatidyletanolamin (PE) i skummjölkspulver (SMP) och lämpar sig för kontroll av kärnmjölksubstanser i SMP.

2. Definition

PS + PE-innehåll: substansens massfraktion bestäms genom det förfarande som specificeras här. Resultatet uttrycks i milligram fosfatidyletanolamin dipalmitoyl (PEDP) per 100 g pulver.

3. Princip

Extrakt av aminofosfolipider genom metanol från rekonstituerat mjölkpulver. Bestämning av PS och PE som o-ftaldialdehyd derivat (OPA) genom vätskekromatografi (RP HPLC-metod) och flourenscensprövning. Kvantifiering av PS- och PE-innehåll i testet med referens till ett standardprov som innehåller en känd halt av PEDP.

4. Reagenser

Alla reagenser måste ha erkänd analytisk renhet. Vattnet måste vara destillerat eller av en motsvarande renhetsgrad om inte annat anges.

4.1 *Standardmaterial: PEDP, med en renhetsgrad på minst 99 %*

Märk: Standardmaterial skall lagras vid − 18 °C.

4.2 *Reagenser för standardprov och förberedelser för testextrakt*

4.2.1 Metanol som skall vara av HPLC-grad

4.2.2 Kloroform som skall vara av HPLC-grad

4.2.3 Tryptamin monohydroklorid

4.3 *Reagenser för derivatisering av o-ftaldialdehyd*

4.3.1 Natriumhydroxid, 12 M vattenlösning

4.3.2 Borsyra, 0,4 M vattenlösning justerad till pH 10,0 med natriumhydroxid (4.3.1)

4.3.3 2-merkaptoetanol

4.3.4 O-ftaldialdehyd (OPA)

4.4 *Elueringslösningar för HPLC*

Elueringslösningarna måste förberedas genom reagenserna av HPLC-grad.

4.4.1 Vatten av HPLC-grad

4.4.2 Metanol av en renhet som mätts med flourescensmätare

4.4.3 Tetrahydrofuran

4.4.4 Natriumvätefosfat

4.4.5 Natriumacetat

4.4.6 Ättiksyra

5. Utrustning

5.1 *Analysvåg*

5.2 *Glasbägare på 25 och 100 ml*

5.3 *Pipetter för 1 och 10 ml*

5.4 *Magnetomrörare*

5.5. *Graderade pipetter för 0,2, 0,5 och 5 ml*

5.6 *Mätkolvar på 10, 50 och 100 ml*

5.7 *Injiceringsnålar på 20 och 100 µl*

5.8 *Ultraljudsbad*

5.9 *Centrifug med en centrifugalkraft på 27 000 × g*

5.10 *Provrör på ca 5 ml*

5.11 *Graderade cylinder på 25 ml*

5.12 *pH-mätare*

5.13 *HPLC-utrustning*

5.13.1 Gradient pumpsystem med en kapacitet på 1,0 ml/min vid 200 bar

5.13.2 Automatisk fraktionsprövning med derivatiseringsmöjlighet

5.13.3 Kolonnset med värmare för 30 °C.

5.13.4 Flourescensdetektor på 330 nm magnetvåglängd och 440 nm strålningsvåglängd

5.13.5 Integrator eller mjukvara för databehandling som kan mäta topparnas areor

5.13.6 En "lichrosphere" — 100 kolonn (250 × 4,6 mm) eller en motsvarande kolonn med octadecylsilan (C18), 5 µm partikelstorlek

6. Provtagning

Provtagningen skall ske enligt IDF Standard 50B 1985.

7. Provförfarande

7.1 *Blandning av intern standardlösning*

Väg in 30,0 ± 0,1 mg tryptamin monohydrochlorid (4.2.3) i en mätkolv på 100 ml (5.6) och fyll på metanol upp till graderingen (4.2.1). Tag 1 ml av denna lösning i en 1 ml-pipett (5.3) och för över till en graderad mätkolv på 10 ml (5.6) och fyll på metanol upp till graderingen (4.2.1) för att få en 0.15 mM tryptaminlösning.

7.2 *Beredning av provlösningen*

Väg in 1000 ± 0,001 g av SMP-provet i en glasbägare på 25 ml (5.2). Tillsätt med en pipett 10 ml destillerat vatten med en temperatur av 40 °C (5.3) och rör om med magnetomröraren (5.4) under 30 min för att lösa upp alla klumpar. Tag 0,2 ml (5.5) av den rekonstituerade mjölken i en pipett och sätt den i en mätgolv graderad till 10 ml (5.6), tillsätt 100 µl av tryptaminlösningen på 0,15 mM (7.1) med en injiceringsnål (5.7) och häll på metanol till graderingen (4.2.1). Blanda försiktigt genom inversion och låt ligga i ultraljudsbad under 15 min. Centrifugera (5.9) vid 27 000 × g under 10 min och samla in supernatanten i ett provrör (5.10).

Märk:

Provlösningen skall lagras vid 4 °C tills HPLC-analysen skall utföras.

7.3 *Beredning av extern standardlösning*

Väg upp 55,4 mg PEDP (4.1) och häll det i en mätkolv på 50 ml (5.6) och tillsätt ca 25 ml kloroform (4.2.2) med en graderad cylinder (5.11). Värm upp den väl täckta kolven till 50 °C och blanda försiktigt tills dess PEDP löser sig. Kyl ned kolven till 20 °C och fyll sedan metanol till graderingen (4.2.1) och blanda genom inversion. Tag 1 ml (5.3) av lösningen med en pipett och häll den i en mätkolv på 100 ml (5.6) samt tillsätt metanol upp till graderingen (4.2.1). Tag 1 ml (5.3) av lösningen med en pipett och häll i en mätkolv på 10 ml (5.6), tillsätt 100 µl (5.7) av tryptaminlösningen på 0,15 mM (7.1) och häll på metanol upp till graderingen (4.2.1). Blanda genom inversion.

Märk:

Provlösningen skall lagras vid 4 °C tills HPLC-analysen skall utföras.

7.4 *Beredning av reagensen för derivatisering*

Väg upp 25,0 ± 0,1 mg OPA (4.3.4) i en 10 ml mätkolv (5.6), tillsätt 0,5 ml (5.5) metanol (4.2.1) och blanda noga för att lösa upp OPA. Häll i borsyrelösning upp till graderingen (4.3.2) och tillsätt 20 µl av 2-merkaptoetanol (4.3.3) med en injiceringsnål (5.7).

Märk:

Reagensen skall lagras vid 4 °C i en mörk flaska och stabiliseras under en vecka.

7.5 *HPLC-bestämning*

7.5.1 Elueringslösningar (4.4)

A-lösning:

0,3 mM natriumvätefosfat och 3 mM natriumacetatlösning (anpassad till pH 6,5 med ättiksyra) metanol: tetrahydrofuran = 558:440:2 (v/v/v)

B-lösning:

metanol

7.5.2 Föreslagen elueringsgradient:

Tid (min)	A-lösning (%)	B-lösning (%)	Flöde (ml/min)
Initial	40	60	0
0,1	40	60	0,1
5,0	40	60	0,1
6,0	40	60	1,0
6,5	40	60	1,0
9,0	36	64	1,0
10,0	20	80	1,0
11,5	16	84	1,0
12,0	16	84	1,0
16,0	10	90	1,0
19,0	0	100	1,0
20,0	0	100	1,0
21,0	40	60	1,0
29,0	40	60	1,0
30,0	40	60	0

Märk: Elueringsgradienten kan behöva en liten förändring för att nå den upplösning som visas i figur 1.

Kolonntemperatur: 30 °C.

7.5.3 Injektionsvolym: 50 µl reagens för derivatiseringen, och 50 µl av provlösningen.

7.5.4 Kolonnbalansering

För att starta systemet för dagligt bruk, spola kolonnen med 100 % metanol (B-lösning) i 15 min, ställ sedan in A: B = 40: 60 och balansera vid 1 ml/min under 15 min. Genomför en provomgång genom att injicera metanol (4.2.1).

Märk: Spola kolonnen med metanol:kloroform = 80:20 (v/v) under 30 min innan den läggs undan för längre tid.

7.5.5 Bestämning av PS + PE-innehåll i provet

Genomför sekvensen av de kromatografiska analyserna med konstant provtid för att få retentionstiderna konstanta. Injicera den externa standardlösningen (7.3) vart femte till tionde prov för att utvärderna svarsfaktorn.

Märk: Kolonnen skall rengöras genom att spola med 100-procentig B-lösning under 30 min vid var 20:e eller 25:e provomgång.

7.6 *Integration*

7.6.1 PEDP-topp

PEDP eluderas som en enkel topp. Bestäm toppens höjd genom dalintegrering.

7.6.2 Tryptamintopp

Tryptamin eluderas som en enskild topp (figur 1). Bestäm toppens höjd genom dalintegrering.

7.6.3 Grupperade PS- och PE-toppar.

Under de villkor som beskrivs (figur 1), eluderar PS som 2 högre toppar som delvis är olösta och som föregås av en lägre topp. PE eluderar som 3 högre toppar som delvis är olösta. Bestäm hela fasen av varje toppkluster genom att sätta den baslinje som finns i figur 1.

8. **Kalkyl och resultat**

PS- och PE-innehåll i provet skall kalkyleras enligt följande formel:

$$C = 55{,}36 \times \frac{A_2}{A_1} \times \frac{T_1}{T_2}$$

där:

C: PS- eller PE-innehåll (mg/100 g pulver) i provet;

A_1: PEDP-topparea av standardlösning (7.3);

A_2: PS- eller PE-topparea av standardlösning (7.2);

T_1: Tryptamintopparea av standardlösning (7.3);

T_2: Tryptamintopparea i testextraktet (7.2).

9. **Precision**

Märk: Värden för repeterbarhet har kalkylerats enligt IDF:s internationella standard (1). Den förutsedda gränsen för repeterbarhet har kalkylerats i enlighet med "riktlinjer för tolkning av analytiska resultat och tillämpningen av sensorisk utvärdering av mjölk och mjölkprodukter inom den gemensamma marknadsorganisationen" (kommissionens dokument VI/2721/95).

9.1 *Repeterbarhet*

Den relativa repeterbarhetens standardavvikelse som uttrycker variabiliteten i obundna analytiska resultat som erhållits av samma provtagare genom att använda samma utrustning, under samma villkor, av samma prov med kort intervall, bör inte överskrida motsvarande 2 %. Om två bestämningar erhålls under dessa villkor, bör motsvarande differens mellan resultaten inte vara större än 6 % av resultatets aritmetiska mått.

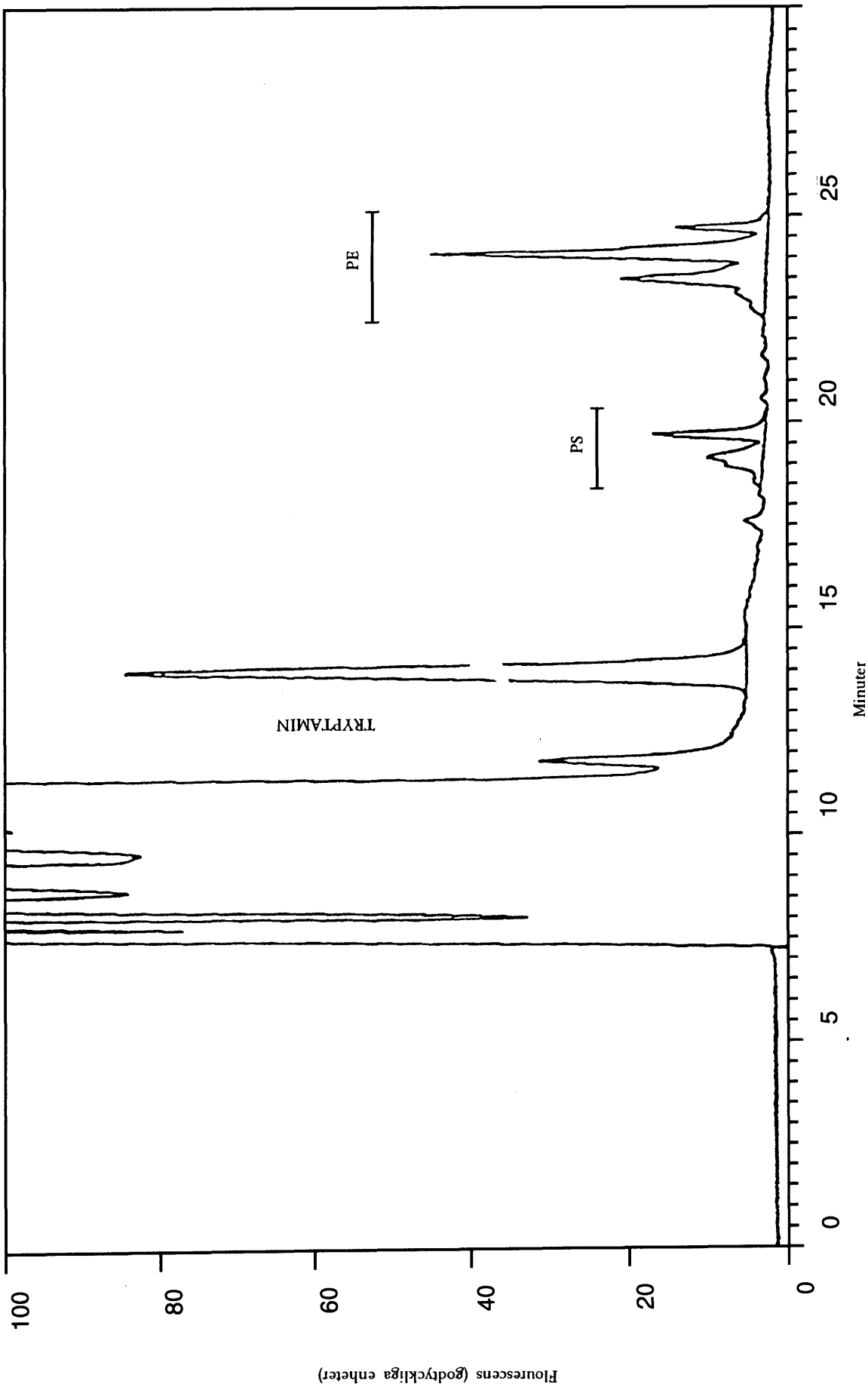
9.2 *Reproducerbarhet*

Om två bestämningar erhålls av provtagare i olika laboratorier genom att använda samma utrustning under olika villkor av samma prov, bör den motsvarande differensen mellan resultaten inte vara större än 11 % av resultatets aritmetiska mått.

10. **Bibliografi**

10.1 Resmini P., Pellegrino L., Hogenboom J.A., Sadini V., Rampilli M.: "Spårning av kärnmjölkssubstanser i skummjölkspulver genom HPLC-bestämning av aminofosfolipider". Sci. Tecn. Latt.-Cas., 39,395 (1988).

(1) *International IDF Standard 135/1991.* Mjölk och mjölkprodukter. Precisionskaraktäristika för analytiska metoder. Skiss kollaborativ studieprocedur.



Figur 1: HPLC-mönster av OPA-derivat av fosfatidylserine (PS) och fosfatidyletanolamin (PE) i metanolextrakt av rekonstituerat skummjölkspulver. Integrationstyp för PS-, PE- och tryptamintoppar (intern standard) rapporteras.

BILAGA VII

SPÅRNING AV ANTIBIOTIKA OCH SULFAMID/DAPSON-RESTER I SKUMMJÖLKSPULVER

Screeningtesta för att spåra hämmare av mikrobiell aktivitet genom att använda testmikroorganismen *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C953. Testet skall ha tillräcklig känslighet för att spåra 4 µg Benzylpenicillin och 100 µg sulfamidin per liter mjölk. Kommersiella testutrustningar finns och kan användas om de har den känslighet som krävs för benzylpenicillin och sulfamidin (1).

För testet används rekonstituerat skummjölkspulver (1 g pulver + 9 ml dest. vatten). Testet utförs enligt beskrivning i IDF-Bulletin nr 258/1991, avsnitt 1, kapitel 2, eller i enlighet med instruktionerna från testutrustningens tillverkare.

Positiva resultat skall tolkas enligt följande:

1. Gör om testet och tillsätt penicillinase:
   — *Positivit resultat:* Hämmande substanser kan inte identifieras genom denna procedur.
   — *Negativt resultat:* Hämmande substans är ett β-laktam antibiotikum.
2. Gör om testet och tillsätt p-aminobenzosyra:
   — *Positivit resultat:* Hämmande substanser kan inte identifieras genom denna procedur.
   — *Negativt resultat:* Den hämmande substansen är ett sulfamid/dapson.
3. Gör om testet och tillsätt penicillinase + p-aminobenzosyra:
   — *Positivit resultat:* Hämmande substanser kan inte identifieras genom denna procedur.
   — *Negativt resultat:* De hämmande substanserna är ett β-laktam antibiotikum och ett sulfamid/dapson.

(1) *Viktigt meddelande:* Falskt positivt resultat kan erhållas vid analys av skummjölkspulvret. Det är därför viktigt att bekräfta att det testsystem som används inte visar sådana resultat.