

Dansk udgave

## Retsforskrifter

Inhold

I *Retsakter hvis offentliggørelse er obligatorisk*

.....

II *Retsakter hvis offentliggørelse ikke er obligatorisk*

**Kommission**

81/712/EØF:

- ★ **Kommissionens første direktiv af 28. juli 1981 om fastsættelse af fællesskabsanalysemetoder til kontrol af renhedskriterier for visse tilsætningsstoffer til levnedsmidler** ..... 1

81/713/EØF:

- ★ **Kommissionens beslutning af 28. juli 1981 om listen over de virksomheder i Forbundsrepublikken Brasilien, der er godkendt til indførsel til Fællesskabet af fersk kød af kvæg og enhovede husdyr** ..... 28

81/714/EØF:

- ★ **Kommissionens beslutning af 28. juli 1981 om ændring af listerne over de virksomheder i republikken Argentina og republikken Uruguay, der er godkendt til indførsel til Fællesskabet af fersk kød af kvæg, får og enhovede husdyr** ..... 32

81/715/EØF:

- ★ **Kommissionens niende direktiv af 31. juli 1981 om fastsættelse af fællesskabsanalysemetoder til den officielle kontrol med foderstoffer** ..... 38

## II

(Retsakter hvis offentliggørelse ikke er obligatorisk)

## KOMMISSION

## KOMMISSIONENS FØRSTE DIREKTIV

af 28. juli 1981

om fastsættelse af fællesskabsanalysemetoder til kontrol af renhedskriterier for visse tilsætningsstoffer til levnedsmidler

(81/712/EØF)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det europæiske økonomiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv af 23. oktober 1962 om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om farvestoffer, der kan anvendes i levnedsmidler <sup>(1)</sup>, senest ændret ved direktiv 78/144/EØF <sup>(2)</sup>, især artikel 11, stk. 2,

under henvisning til Rådets direktiv 64/54/EØF af 5. november 1963 om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om konserveringsmidler, som kan anvendes i levnedsmidler <sup>(3)</sup>, senest ændret ved direktiv 79/40/EØF <sup>(4)</sup>, og særlig artikel 8, stk. 2,

under henvisning til Rådets direktiv 70/357/EØF af 13. juli 1970 om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om stoffer, der har antioxidant-

virkning, og som kan anvendes i levnedsmidler <sup>(5)</sup>, senest ændret ved direktiv 78/143/EØF <sup>(6)</sup>, og særlig artikel 5, stk. 2, og

ud fra følgende betragtninger:

disse bestemmelser fastsætter, at generelle og specifikke kriterier for renhed af de pågældende tilsætningsstoffer skal kontrolleres efter fællesskabsanalysemetoder;

det vil være hensigtsmæssigt at vedtage en første serie af metoder, som det har været muligt at færdigundersøge;

de i dette direktiv fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Den stående Levnedsmiddelkomité —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

*Artikel 1*

Medlemsstaterne foreskriver, at de analyser, der er nødvendige for kontrol af generelle og specifikke

<sup>(1)</sup> EFT nr. 115 af 11. 11. 1962, s. 2645/62.

<sup>(2)</sup> EFT nr. L 44 af 15. 2. 1978, s. 20.

<sup>(3)</sup> EFT nr. 12 af 27. 1. 1964, s. 161/64.

<sup>(4)</sup> EFT nr. L 13 af 19. 1. 1979, s. 50.

<sup>(5)</sup> EFT nr. L 157 af 18. 7. 1970, s. 31.

<sup>(6)</sup> EFT nr. L 44 af 15. 2. 1978, s. 18.

renhedskriterier for visse tilsætningsstoffer til levnedsmidler, gennemføres efter de metoder, der er beskrevet i bilag II, og hvis anvendelsesområde er fastlagt i bilag I.

*Artikel 2*

Medlemsstaterne sætter senest den 20. februar 1983 de nødvendige love og administrative bestemmelser i kraft for at efterkomme dette direktiv. De underretter straks Kommissionen herom.

*Artikel 3*

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 28. juli 1981.

*På Kommissionens vegne*  
Karl-Heinz NARJES  
*Medlem af Kommissionen*

**BILAG I****ANVENDELSESOMRÅDE FOR FÆLLESSKABSANALYSEMETODER TIL KONTROL  
AF RENHEDSKRITERIER FOR VISSE TILSÆTNINGSSTOFFER TIL  
LEVNEDSMIDLER****I. INDLEDNING****II. FARVESTOFFER**

- II.1. Bestemmelse af stoffer, som med diethylether kan ekstraheres fra vandopløselige, organo-sulfonerede farvestoffer, som anvendes i levnedsmidler, under anvendelse af metode 1, bilag II.

**III. KONSERVERINGSMIDLER**

- III.1. Bestemmelse af myresyre, formiater og andre oxiderbare urenheder i eddikesyre (E 260), kaliumacetat (E 261), natriumdiacetat (E 262) og calciumacetat (E 263) under anvendelse af metode 2, bilag II.
- III.2. Bestemmelse af ikke-flygtige stoffer i propionsyre (E 280) under anvendelse af metode 3, bilag II.
- III.3. Bestemmelse af tørringstab for natriumnitrit (E 250) under anvendelse af metode 4, bilag II.
- III.4. Prøve af salicylsyre i ethyl-*p*-hydroxybenzoat (E 214), ethyl-*p*-hydroxybenzoat, natriumsalt (E 215), propyl-*p*-hydroxybenzoat (E 216), propyl-*p*-hydroxybenzoat, natriumsalt (E 217), methyl-*p*-hydroxybenzoat (E 218), methyl-*p*-hydroxybenzoat, natriumsalt (E 219), under anvendelse af metode 5, bilag II.
- III.5. Bestemmelse af fri eddikesyre i natriumacetat (E 262) under anvendelse af metode 6, bilag II.
- III.6. Bestemmelse af natriumacetat i natriumdiacetat (E 262) under anvendelse af metode 7, bilag II.
- III.7. Prøve for aldehyder i sorbinsyre (E 200), natrium-, kalium- og calciumsorbater (E 201, E 202, E 203) og i propionsyre (E 280) under anvendelse af metode 8, bilag II.

**IV. ANTIOXIDANTER**

- IV.1. Bestemmelse af peroxidallet for lecithin (E 322) under anvendelse af metode 9, bilag II.
- IV.2. Bestemmelse af toluenuopløselige stoffer i lecithin (E 322) under anvendelse af metode 10, bilag II.
- IV.3. Prøve for reducerende stoffer i natrium-, kalium- og calciumlactat (E 325, E 326, E 327) under anvendelse af metode 11, bilag II.
- IV.4. Bestemmelse af flygtige syrer i orthophosphorsyre (E 338) under anvendelse af metode 12, bilag II.

- IV.5. Prøve for nitrater i orthophosphorsyre (E 338) under anvendelse af metode 13, bilag II.
- IV.6. Bestemmelse af vandopløselige stoffer i mononatrium-, dinatrium- og trinatriummorthosphat samt i monokalium-, dikalium- og trikaliumorthosphat (E 339 i, E 339 ii, E 339 iii, E 340 i, E 340 ii, E 340 iii) under anvendelse af metode 14, bilag II.

#### V. GENERELT

- V.1. Bestemmelse af pH i tilsætningsstoffer til levnedsmidler under anvendelse af metode 15, bilag II.
-

**BILAG II****ANALYSEMETODER VEDRØRENDE RENHEDSKRITERIER FOR  
TILSÆTNINGSSTOFFER TIL LEVNEDSMIDLER****INDLEDNING****1. Tilberedning af prøven****1.1. Generelt**

Massen af laboratorieprøver til analyse skal normalt være på 50 g, medmindre en større mængde er nødvendig til en særlig bestemmelse.

**1.2. Tilberedning af prøven**

Prøven homogeniseres før analysen.

**1.3. Opbevaring**

Den således tilberedte prøve bør altid opbevares i en tæt tillukket beholder og under forhold, hvor den ikke ændrer sig.

**2. Reagenser****2.1. Vand**

2.1.1. Når der tales om vand til opløsninger, fortynding og vask, menes der altid destilleret vand eller demineraliseret vand af mindst samme renhed.

2.1.2. Når der nævnes »opløsning« eller »fortynding« og intet andet reagens er nævnt, er det altid vandig opløsning.

**2.2. Kemikalier**

Alle kemikalier skal være af analysekvalitet, hvis intet andet er specificeret.

**3. Apparatur****3.1. Apparaturliste**

Listen over apparatur refererer til udstyr til speciel anvendelse og med særlige specifikationer.

**3.2. Analysevægt**

Ved en analysevægt forstås en vægt med følsomhed på 0,1 mg eller bedre.

**4. Angivelse af resultater****4.1. Resultater**

Resultatet i analyserapporten er gennemsnittet af mindst to bestemmelser, hvis gentagelighed er tilfredsstillende.

- 4.2. **Beregning af procentdele**  
Bortset fra særlige bestemmelser udtrykkes resultaterne i procent (w/w) af den oprindelige prøve, som den er kommet laboratoriet i hænde.
- 4.3. **Antallet af betydende cifre**  
Resultatet bør ikke have flere betydende cifre end metodens præcision tillader.

## METODE 1

STOFFER, SOM MED ETHER KAN EKSTRAHERES FRA VANDOPLØSELIGE, ORGANOSULFONEREDE FARVESTOFFER, SOM ANVENDES I LEVNEDSMIDLER

1. **Anvendelsesområde**  
Metoden kan anvendes til bestemmelse af stoffer, som med diethylether kan ekstraheres fra vandopøselige svovlholdige organiske farvestoffer, som ikke er blandet med en bærer.
2. **Definition**  
Indholdet af stoffer, som kan ekstraheres med ethylether, fås ved den her beskrevne metode.
3. **Princip**  
Farvestoffet ekstraheres med ether (diethylether), og den tørre rest vejes efter afdampning af etheren.
4. **Reagenser**
  - 4.1. Tør ether (diethylether) befriet for peroxider (tørret med frisk udglødet calciumchlorid).
5. **Apparatur**
  - 5.1. Soxhlet-apparat med ekstraktionskolbe.
  - 5.2. Eksikator med frisk aktiveret kiselgel eller tilsvarende vandsugende middel og forsynet med en fugtighedsindikator.
  - 5.3. Analysevægt
  - 5.4. Varmeskab ved  $85 \pm 2$  °C.
6. **Fremgangsmåde**  
På et stykke filterpapir afvejes med en nøjagtighed på 10 mg en prøve på ca. 10 g. Papiret foldes sammen og anbringes i et papirhylster, som tilproppes med fedtfrit vat. Der ekstraheres i seks timer med ethylether (4.1) i et Soxhlet ekstraktionsapparat (5.1). Ethernen afdampes ved så lav temperatur som mulig.

Placer Soxhlet-apparatets ekstrationskolbe — som forud er tareret — indeholdende indampningsresten i varmeskabet (5.4). Tørres ved  $85^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  i tyve minutter. Derefter dækkes den med et urglas, anbringes i eksikkator (5.2), afkøles, og kolben med resten vejes.

Tørring, afkøling og vejning gentages, indtil forskellen mellem to på hinanden følgende vejninger er mindre end 0,5 mg. I tilfælde af vægtforøgelse anvendes til beregningen det laveste af de fundne vejetal.

## 7. Angivelse af resultater

### 7.1. Formel og beregningsmåde

Indholdet af stoffer, som kan ekstraheres med ether, er givet i procent af prøven ved følgende formel:

$$\frac{m_1 \times 100}{m_0}$$

hvor  $m_1$  er massen i gram af indampningsresten, og  $m_0$  er massen i gram af indvejet prøve.

### 7.2. Gentagelighed

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden, under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve, må ikke overstige 20 mg/100 g prøve.

## METODE 2

### BESTEMMELSE AF MYRESYRE, FORMIATER OG ANDRE OXIDERBARE URENHEDER I EDDIKESYRE (E 260), KALIUMACETAT (E 261), NATRIUMDIACETAT (E 262) OG CALCIUMACETAT (E 263)

#### 1. Anvendelsesområde

Metoden kan anvendes til bestemmelse af myresyre, formiater og andre oxiderbare urenheder, beregnet som myresyre, i:

- eddikesyre (E 260),
- kaliumacetat (E 261),
- natriumdiacetat (E 262),
- calciumacetat (E 263).

#### 2. Definition

Indholdet af myresyre, formiater og andre oxiderbare urenheder fås ved den her beskrevne metode.

#### 3. Princip

Prøven behandles med overskud af kaliumpermanganat i basisk medium, hvorved der dannes mangandioxid. Sidstnævnte og overskuddet af kaliumpermanganat titreres iodometrisk, efter at opløsningen er gjort sur, og koncentrationen af urenheder angives som myresyre.



**4. Reagenser**

- 4.1. Kaliumiodid.
- 4.2. Kaliumpermanganat 0,02 mol/l.
- 4.3. Natriumcarbonat (vandfrit).
- 4.4. Natriumthiosulfat 0,1 mol/l.
- 4.5. Stivelsesopløsning (ca. 1 % m/v).
- 4.6. Fortyndet svovlsyre: 90 ml svovlsyre ( $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$ ) fortyndes til 1 liter med vand.

**5. Apparatur**

- 5.1. Kogende vandbad.
- 5.2. Analysevægt.

**6. Fremgangsmåde**

Hvis prøven er fri syre, fortyndes 10 g heraf afvejet med 10 mg's nøjagtighed med 70 ml vand og tilsættes en opløsning af 10 g vandfrit natriumcarbonat (4.3) i 30 ml vand. Hvis prøven er et salt, opløses 10 g afvejet med 10 mg's nøjagtighed i 100 ml vand, tilsættes 1 g vandfrit natriumcarbonat (4.3) og rystes til fuldstændig opløsning. Der tilsættes 20,0 ml kaliumpermanganat 0,02 mol/l (4.2) og opvarmes på kogende vandbad i 15 minutter, hvorefter blandingen afkøles. Der tilsættes 50 ml fortyndet svovlsyre (4.6) og 0,5 g kaliumiodid (4.1). Blandingen rystes forsigtigt, indtil alt det udfældede mangandioxid er opløst. Der titreres med 0,1 mol/l natriumthiosulfatopløsning (4.4), indtil opløsningen er svagt gul. Der tilsættes et par dråber stivelsesopløsning (4.5), og titreringen fortsættes, indtil opløsningen er fuldstændig farveløs.

**7. Angivelse af resultater****7.1. Formel og beregningsmåde**

Det procentvise indhold af myresyre, formiater og andre oxiderbare urenheder, beregnet som myresyre, fås ved følgende formel:

$$\frac{2,3b}{m_0} \times \left( \frac{100a}{b} - V \right)$$

hvor

a er molariteten af kaliumpermanganat,

b er molariteten af natriumthiosulfat,

$m_0$  er massen af den indvejede prøve i gram, og

V er antal ml thiosulfat 0,1 mol/l, som er anvendt til titreringen.

**7.2. Gentagelighed**

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 5 mg/100 g prøve.

**8. Bemærkninger**

- 8.1. Et volumen på 11,3 ml 0,1 mol/l natriumthiosulfat svarer til 0,2 % myresyre i 10 g prøve.
- 8.2. Hvis der ikke er formiat til stede, vil der forbruges 20 ml natriumthiosulfat, men hvis der er over 0,27 % (m/m) myresyre, er overskuddet af  $\text{KMnO}_4$  utilstrækkeligt, og man får et konstant forbrug på 8 ml. I dette tilfælde gentages bestemmelsen med en mindre prøve.

**METODE 3****BESTEMMELSE AF IKKE-FLYGTIGE STOFFE I PROPIONSYRE (E 280)****1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af ikke-flygtige stoffer i propionsyre (E 280).

**2. Definition**

Indholdet af ikke-flygtige stoffer i propionsyre fås ved den her beskrevne metode.

**3. Princip**

Prøven inddampes og tørres ved  $103^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ , og remanensen bestemmes ved gravimetri.

**4. Apparatur**

- 4.1. Fordampningsskål med låg af kvarts eller platin, som er tilstrækkelig stor til at rumme 100 g af prøven.
- 4.2. Varmeskab ved  $103^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ .
- 4.3. Analysevægt.
- 4.4. Kogende vandbad.
- 4.5. Eksikator med frisk aktiveret kiselgel eller tilsvarende vandsugende middel og forsynet med en fugtighedsindikator.

**5. Fremgangsmåde**

Der afvejes med 0,1 g's nøjagtighed ca. 100 g propionsyre i en fordampningsskål (4.1), som i forvejen er tørret og tareret. Der inddampes i stinkskab i et kogende vandbad. Når al propionsyren er fordampet, tørres der i varmeskabet (4.2) ved  $103^\circ \pm 2^\circ \text{C}$  i en time. Skålen anbringes i en eksikator og afkøles. Derefter vejes. Tørring, afkøling og vejning gentages, indtil forskellen mellem to på hinanden følgende vejninger er mindre end 0,5 mg. I tilfælde af masseforøgelse anvendes til beregningen det laveste af de fundne vejetal.

**6. Angivelse af resultater****6.1. Formel og beregningsmåde**

Indholdet af ikke-flygtige stoffer er givet i procent af prøven ved følgende formel:

$$\frac{100 \times m_1}{m_0}$$

Hvor  $m_1$  er massen i gram af inddampningsresten, og  
 $m_0$  massen i gram af indvejet prøve.

**6.2. Gentagelighed**

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve, må ikke overstige 5 mg/100 g prøve.

**METODE 4****BESTEMMELSE AF TØRRINGSTABET FOR NATRIUMNITRIT (E 250)****1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af tørringstab for natriumnitrit (E 250).

**2. Definition**

Indholdet af fugtighed i natriumnitrit er tørringstab, som bestemmes ved den her beskrevne metode.

**3. Princip**

Bestemmelse af massetabet efter opvarmning til  $103^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ .

**4. Apparatur**

4.1. Varmeskab ved  $103^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ .

4.2. Fladbundet glasskål med låg, diameter 60–80 mm, dybde mindst 25 mm.

4.3. Eksikator med frisk aktiveret kiselgel eller tilsvarende vandsugende middel og forsynet med en fugtighedsindikator.

4.4. Analysevægt.

**5. Fremgangsmåde**

Låget fjernes fra glasskålen (4.2), og begge dele opvarmes i varmeskabet (4.1) ved  $103^\circ \pm 2^\circ\text{C}$  i en time. Låget sættes på, og glasskålen (4.2) afkøles i eksikatoren (4.3) til stuetemperatur. Glasskålen (4.2) med låg vejes med 10 mg's nøjagtighed. En prøve på ca. 10 g

afvejes med 10 mg's nøjagtighed i den tildækkede glasskål. Låget fjernes, og både skål og låg opvarmes i varmeskabet ved  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  i en time. Låget sættes atter på, og den tildækkede skål afkøles til stuetemperatur i eksikkatoren (4.3), hvorefter den vejes med 10 mg's nøjagtighed. Opvarmning, afkøling og vejning gentages, indtil forskellen mellem to på hinanden følgende vejninger er mindre end 10 mg. I tilfælde af masseforøgelse anvendes til beregningen det laveste af de funde vejetal.

6. **Angivelse af resultater**

6.1. *Formel og beregningsmåde*

Tørringstab er givet i procent af prøven ved følgende formel:

$$\frac{100 \times (m_2 - m_3)}{(m_2 - m_1)}$$

hvor

$m_1$  er massen af skålen i gram,

$m_2$  er massen i gram af skålen og prøven før tørring, og

$m_3$  er massen i gram af skålen og prøven efter tørring.

6.2. *Gentagelighed*

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 100 mg/100 g prøve.

## METODE 5

PRØVE FOR SALICYLSYRE I ETHYL-*p*-HYDROXYBENZOAT (E 214), I ETHYL-*p*-HYDROXYBENZOAT, NATRIUMSALT (E 215), I PROPYL-*p*-HYDROXYBENZOAT (E 216), I PROPYL-*p*-HYDROXYBENZOAT, NATRIUMSALT (E 217), I METHYL-*p*-HYDROXYBENZOAT (E 218) OG I METHYL-*p*-HYDROXYBENZOAT, NATRIUMSALT (E 219)

1. **Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til påvisning af salicylsyre i ethyl-*p*-hydroxybenzoat (E 214), propyl-*p*-hydroxybenzoat (E 216), methyl-*p*-hydroxybenzoat (E 218) og deres natriumsalte (E 215, E 217 og E 219).

2. **Definition**

Grænseprøve for salicylsyre udføres efter den her beskrevne metode.

3. **Princip**

En opløsning af salicylsyre får ved tilstedeværelse af jern(III)ammoniumsulfat en violet farve, hvis intensitet sammenlignes med en referenceopløsning.

**4. Reagenser**

- 4.1. 0,2 % (m/v) opløsning af jern(III)ammoniumsulfat: (0,2 g jern(III)ammoniumsulfat med 12 molekyler krystalvand opløses i 50 ml vand. Efter tilsætning af 6 ml 10 % (v/v) salpetersyre fortyndes opløsningen til 100 ml med vand).
- 4.2. Ethanol, 95 % (v/v).
- 4.3. Opløsning af salicylsyre med 0,1 g/l.
- 4.4. 1 mol/l svovlsyre.

**5. Apparatur**

- 5.1. Nesslerrør med totalrumfang på 60 ml gradueret til 50 ml.

**6. Fremgangsmåde**

- 6.1. *Prøver af ethyl-p-hydroxybenzoat, propyl-p-hydroxybenzoat og methyl-p-hydroxybenzoat*
  - 6.1.1. 0,1 g af prøven, afvejet med 1 mg's nøjagtighed, opløses i 10 ml 95 % ethanol (v/v) (4.2). Den således fremkomne opløsning overføres til et gradueret Nesslerrør (5.1) og fyldes op til 50 ml med vand. Blandingen rystes, og der tilsættes 1 ml af jern(III)ammoniumsulfatopløsningen (4.1). Der rystes atter, og blandingen henstår et minut.
  - 6.1.2. Samtidig fremstilles som beskrevet i 6.1.1 en referenceopløsning, idet der anvendes 1 ml salicylsyreopløsning (4.3) i stedet for prøven.
  - 6.1.3. Farven på prøveopløsningen sammenlignes med farven på referenceopløsningen.
- 6.2. *Prøver af natriumsalte af methyl, ethyl og propyl-p-hydroxybenzoat*
  - 6.2.1. Fremgangsmåden under 6.1.1 følges, idet der før fortynding til 50 ml gøres sur med 1 mol/l svovlsyre (4.4) til pH ca. 5.
  - 6.2.2. Som 6.1.2.
  - 6.2.3. Som 6.1.3.

**7. Angivelse af resultaterne**

- 7.1. *Tolkning af grænseprøven*

Hvis den rødligt-violette farve i glasset med prøven er stærkere end i glasset med referenceopløsningen, er prøven positiv og indeholder mere end 0,1 % salicylsyre.
- 7.2. *Følsomhed*

Grænsen for påvisning er 30 mg/100 g prøve.
- 7.3. *Bemærkninger*

Resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve skal være identiske.

**METODE 6****BESTEMMELSE AF FRI EDDIKESYRE I NATRIUMDIACETAT (E 262)****1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af fri eddikesyre i natriumdiacetat (E 262).

**2. Definition**

Indholdet af eddikesyre fås ved den her beskrevne metode.

**3. Princip**

Neutralisering af eddikesyren med natriumhydroxid under tilstedeværelse af phenolphtalein.

**4. Reagenser**

4.1. 1 % (m/v) phenolphtaleinopløsning i ethanol.

4.2. 1 mol/l natriumhydroxid.

**5. Apparatur**

5.1. Analysevægt

**6. Fremgangsmåde**

Der afvejes omhyggeligt, med 1 mg's nøjagtighed, ca. 3 g af prøven, og den opløses i 50 ml vand. Der tilsættes 2-3 dråber phenolphtaleinopløsning (4.1) og titreres med natriumhydroxid (4.2), indtil den røde farve, som skyldes omslaget af phenolphtalein, bliver i 5 sekunder.

**7. Angivelse af resultaterne**

7.1. *Formel og beregningsmåde*

Indholdet af eddikesyre i procent (w/w) af prøven er givet ved følgende formel:

$$\frac{6,005 \times V \times c}{m_0}$$

hvor

V er antal ml forbrugt natriumhydroxid,

c er molariteten af natriumhydroxidopløsningen (4.2), og

m<sub>0</sub> er massen i gram af indvejet prøve.

7.2. *Gentagelighed*

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 500 mg/100 g prøve.

**8. Bemærkning**

Der anvendes 20 ml 1 mol/l natriumhydroxid til titrering af en prøve på 3,0 g, hvis denne indeholder 40 % eddikesyre.

**METODE 7****BESTEMMELSE AF NATRIUMACETAT I NATRUIMDIACETAT (E 262)****1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af natriumacetat og vand, udtrykt som natriumacetat, i natriumdiacetat (E 262).

**2. Definition**

Indholdet af natriumacetat: indholdet af natriumacetat og vand, udtrykt som natriumacetat, hvilket fås ved her beskrevne metode.

**3. Princip**

Prøven opløses i iseddike og titreres derefter med en referenceopløsning af perchlorsyre med krystalviolet som indikator.

**4. Reagenser**

4.1. Iseddike ( $\rho_{20}^{\circ}\text{C} = 1,049 \text{ g/ml}$ ) (til titrering i ikke-vandigt medium).

4.2. Krystalviolet C.I. nr. 42555, 0,2 % (m/v) opløsning i iseddike.

4.3. Surt kaliumphthalat,  $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ .

4.4. Eddikesyreanhydrid,  $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ .

4.5. 0,1 mol/l perchlorsyre i iseddike. Tilberedes og indstilles som følger:

P g perchlorsyreopløsning afvejes i en 1 000 ml målekolbe, forsynet med en slebet glasprop. De P g beregnes efter formelen:

$$P = \frac{1\,004,6}{m}$$

hvor

m = perchlorsyrekoncentrationen i procent (m/m) bestemt ved titrering (70-72 % (m/m) er den mest passende koncentration).

Der tilsættes ca. 100 ml iseddike og derefter Q g eddikesyreanhydrid i små portioner ad gangen, samtidig med at blandingen uafbrudt omrystes og afkøles.

$$Q = \frac{(567 \times P) - 5\,695}{a}$$

hvor

P = den afvejede mængde perchlorsyre i gram

a = eddikesyreanhydridkoncentrationen i procent (m/m).

Kolben tilproppes og hensættes i mørke i 24 timer.

Derefter tilsættes tilstrækkeligt iseddike til at opnå 1 000 ml opløsning. Den således fremstillede opløsning er praktisk talt vandfri.

Opløsningen indstilles på følgende måde med surt kaliumphthalat:

Med 0,1 mg's nøjagtighed afvejes ca. 0,2 g surt kaliumphthalat, som forud er tørret i 2 timer ved 110 °C, og opløses i 25 ml iseddike i en konisk kolbe under forsigtig opvarmning.

Der afkøles, tilsættes 2 dråber 0,2 % (m/m) krystalviolet opløsning i iseddike (4.2) og titreres med perchlorsyreopløsning, indtil indikatoren viser farveomslag til bleggønt.

Der gennemføres en blindtitrering med samme mængde opløsningsmiddel, 20,42 mg kaliumhydrogenphthalat svarer til 1 ml 0,1 mol/l perchlorsyre.

## 5. **Apparatur**

### 5.1. **Analysevægt.**

## 6. **Fremgangsmåde**

Der afvejes, med 0,5 mg's nøjagtighed, ca. 0,2 g af prøven, som opløses i 50 ml iseddike (4.1). Der tilsættes nogle dråber krystalvioletindikator (4.2) og titreres med 0,1 mol/l perchlorsyreopløsning (4.5), indtil indikatoren slår om til grøn farve.

## 7. **Angivelse af resultaterne**

### 7.1. **Formel og beregningsmåde**

Indholdet af natriumacetat, som defineret i 2., er givet i procent (w/w) af prøven ved følgende formel:

$$\frac{8,023 \times V \times c}{m_0}$$

hvor

V = er antal ml forbrugt perchlorsyre (4.5),

c = er molariteten af perchlorsyren (4.5),

m<sub>0</sub> = er massen i gram af indvejet prøve.

### 7.2. **Gentagelighed**

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 1,5 g/100 g prøve.

## 8. **Bemærkning**

De til denne metode anvendte reagenser er giftige og eksplosive, hvorfor de må behandles med forsigtighed.

## METODE 8

### PRØVE FOR ALDEHYDER I SORBINSYRE (E 200), NATRIUM-, KALIUM- OG CALCIUMSORBAT (E 201, E 202, E 203) OG I PROPIONSYRE (E 280)

#### 1. **Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af aldehyder, udtrykt som formaldehyd, i:

- sorbinsyre (E 200),
- natrium-, kalium- og calciumsorbit (E 201, E 202, E 203),
- propionsyre (E 280).



2. **Definition**

Koncentrationsprøve: koncentrationen af aldehyder, udtrykt ved formaldehyd, fås ved denne metode.
3. **Princip**

Reaktion af aldehyder i analyseopløsningen med Schiff's reagens og sammenligning af intensiteten af den røde farve med en formaldehyd referenceopløsning, som indeholder Schiff's reagens.
4. **Reagenser**
  - 4.1. Referenceopløsning med 0,01 mg formaldehyd pr. liter: fremstilles ved fortynding af en koncentreret opløsning af formaldehyd (400 mg/ml).
  - 4.2. Schiff's reagens.
5. **Fremgangsmåde**
  - 5.1. 1 g prøve, som er afvejet med 1 mg's nøjagtighed, blandes i 100 ml vand og rystes. Om nødvendigt filtreres opløsningen, og til 1 ml af filtratet eller opløsningen sættes 1 ml Schiff's reagens (4.2). Samtidig tilsættes 1 ml af referenceopløsningen (4.1) 1 ml Schiff's reagens (4.2).
  - 5.2. Efter 30 minutter sammenlignes farven i prøveopløsningen med farven i referenceopløsningen.
6. **Angivelse af resultaterne**
  - 6.1. *Tolkning af grænseprøven*

Hvis den røde farve i glasset med prøven er stærkere end i glasset med referenceopløsningen, er prøven positiv og indeholder mere end 0,1 % aldehyd, udtrykt som formaldehyd.
  - 6.2. *Påvisningsgrænse*

Grænsen for påvisning er 30 mg/100 g prøve.
  - 6.3. *Bemærkninger*

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve skal give samme resultat af prøven.

## METODE 9

### BESTEMMELSE AF PEROXIDTALLET FOR LECITHIN (E 322)

1. **Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af peroxidallet for lecithin (E 322).
2. **Definition**

Peroxidallet fås ved anvendelse af nedennævnte metode.

**3. Princip**

Oxidation af iodid med lecithinets peroxidgrupper og titrering af den frigjorte iod med natriumthiosulfat.

**4. Reagenser**

- 4.1. Iseddike.
- 4.2. Chloroform.
- 4.3. Kaliumiodid.
- 4.4. 0,1 mol/l eller 0,01 mol/l natriumthiosulfat.
- 4.5. Stivelsesopløsning (ca. 1 % m/v).

**5. Apparatur**

- 5.1. Analysevægt.
- 5.2. Apparat som på fig. 1, bestående af:
  - 5.2.1. rundbundet kolbe, 100 ml;
  - 5.2.2. tilbagesvaler;
  - 5.2.3. glasrør med slib, længde 250 mm, indvendig diameter 22 mm;
  - 5.2.4. mikrobægerglas med følgende udvendige dimensioner: højde 35-50 mm, diameter 20 mm.

**6. Fremgangsmåde**

- 6.1. 10 ml iseddike (4.1) og 10 ml chloroform (4.2) overføres til kolben (5.2.1). Glasrøret (5.2.3) og tilbagesvaleren (5.2.2) anbringes som vist på figuren, og blandingen koges svagt i 2 minutter for at uddrive opløst luft. 1 g kaliumiodid (4.3) opløses i 1,3 ml vand; denne opløsning sættes til blandingen i kolben (5.2.1), idet man sørger for, at kogningen ikke afbrydes.

Hvis der på dette tidspunkt fremkommer en gul farve, kan analysen ikke bruges, og man må begynde forfra med friskfremstillede reagenser.

- 6.2. Efter yderligere to minutters kogning sættes 1 g prøve, som er afvejet med 1 mg's nøjagtighed, til kolbens indhold (5.2.1), idet man atter sørger for, at kogningen fortsætter uafbrudt. Til dette formål bør prøven befinde sig i et lille bægerglas (5.2.4), som kan nedsænkes gennem glasrøret (5.2.3) med en glasstang, passende formet som vist på tegningen. Tilbagesvaleren (5.2.2) kan fjernes i kort tid. Kogningen fortsættes endnu 3-4 minutter, hvorefter opvarmningen afbrydes, og svaleren straks fjernes. Der tilsættes hurtigt 50 ml vand gennem glasrøret (5.2.3), som derefter fjernes, og kolben (5.2.1) afkøles til stuetemperatur under rindende vand. Der titreres med natriumthiosulfat (0,1 mol/l eller 0,01 mol/l) (4.4), indtil det vandige lag bliver svagt gulligt. Der tilsættes lige før afslutningen af titreringen 1 ml af stivelsesopløsningen (4.5) og titreres, indtil den blå farve forsvinder. Kolbens (5.2.1) indhold omrøres godt under titreringen for fuldstændigt at ekstrahere iodet fra det ikke-vandige lag.

6.3. Der foretages en blindværdibestemmelse efter 6.1 og 6.2.

7. **Angivelse af resultaterne**

7.1. *Formel og beregningsmåde*

Perioxidtallet for prøven er givet i milliækvivalenter/kg ved:

$$\frac{1000 \times a \times (V_1 - V_2)}{m_0}$$

hvor

$V_1$  er antal ml af thiosulfatopløsningen, som er forbrugt ved titreringen af prøven efter (6.2);

$V_2$  er antal ml af thiosulfatopløsningen, som er forbrugt ved titreringen af blindprøven efter (6.3);

$a$  er koncentrationen af natriumthiosulfatopløsningen i mol/l;

$m_0$  er massen i gram af indvejet prøve.

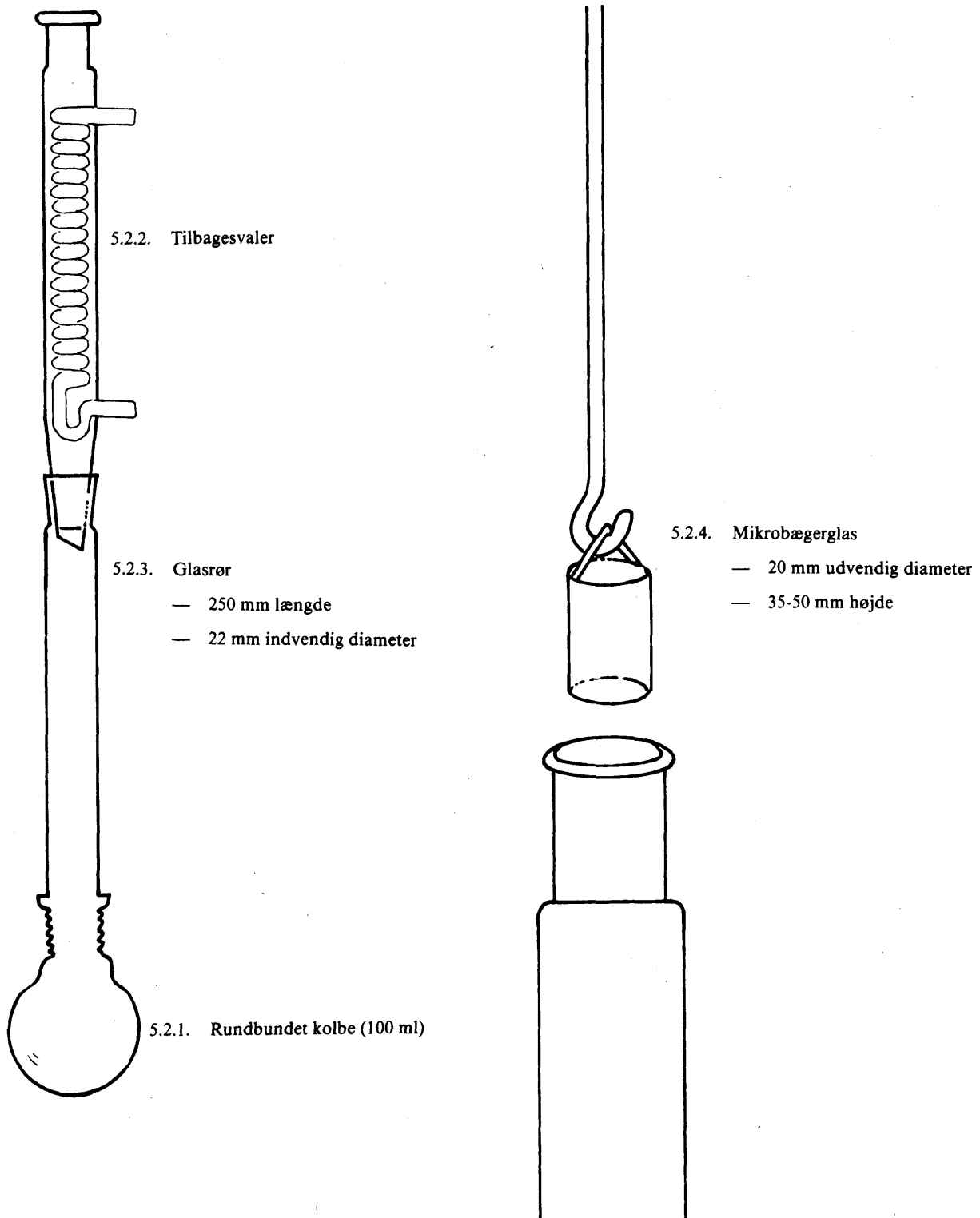
7.2. *Gentagelighed*

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 0,5 udtrykt i milliækvivalenter pr. kg prøve.

8. **Bemærkninger**

8.1. Valget af koncentrationen af den anvendte thiosulfatopløsning afhænger af det forventede resultat. Hvis der anvendes mindre end 0,5 ml 0,1 mol/l natriumthiosulfat, gentages bestemmelsen med anvendelse af 0,01 mol/l thiosulfat.

8.2. Analysen bør udføres afskærmet mod for stærkt lys.



Apparat til bestemmelse af peroxidallet i lecithiner

**METODE 10****BESTEMMELSE AF TOLUENUOPLØSELIGE STOFFER I LECITHIN (E 322)****1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af de stoffer i lecithin (E 322), som er uopløselige i toluen.

**2. Definition**

Indholdet af toluenuopløselige stoffer fås ved den her beskrevne metode.

**3. Princip**

Filtrering af toluenuopløselige urenheder og tørring af remanensen.

**4. Reagenser**

## 4.1. Toluen.

**5. Apparatur**

5.1. Glasfilterdigel G 3 på 30 ml eller tilsvarende.

5.2. Varmeskab på  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

5.3. Vandbad på ikke over  $60^{\circ}\text{C}$ .

5.4. Eksikator med frisk aktiveret kiselgel eller tilsvarende vandsugende middel og forsynet med en fugtighedsindikator.

5.5. Konisk kolbe på 500 ml.

5.6. Vandstrålepumpe.

5.7. Analysevægt.

**6. Fremgangsmåde**

6.1. En 30 ml glasfilterdigel (5.1) tørres i varmeskabet (5.2).

6.2. Prøven af lecithin blandes grundigt, om nødvendigt efter opvarmning på vandbad (5.2). Der afvejes, med 1 mg's nøjagtighed, ca. 10 g af prøven i en konisk kolbe (5.5). Der tilsættes 100 ml toluen (4.1), og blandingen omrøres, indtil al lecithinen er opløst. Opløsningen filtreres gennem glasfilteret (5.1). Den koniske kolbe (5.5) skylles med 25 ml toluen (4.1), og vaskevæsken hældes gennem filteret (5.1). Dette gentages med endnu 25 ml toluen (4.1), hvorefter overskud af toluen fjernes fra filteret ved sugning.

- 6.3. Filterdigelen (5.1) og remanensen tørres i varmeskabet (5.2) ved  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  i to timer, hvorefter den afkøles i eksikkator (5.4) og vejes.
- 6.4. 6.3 gentages, indtil forskellen mellem to på hinanden følgende vejninger er mindre end 0,5 mg. I tilfælde af vægtforøgelse anvendes til beregningen det laveste af de fundne vejetal.

7. **Angivelse af resultaterne**

7.1. *Formel og beregningsmåde*

Indholdet af toluenuopløselige stoffer er givet ved:

$$\frac{100 (m_2 - m_1)}{m_0}$$

hvor

$m_1$  er massen i gram af den tomme filterdigel (6.1),

$m_2$  er massen i gram af filterdigel og remanens (6.4),

$m_0$  er massen i gram af indvejet prøve.

7.2. *Gentagelighed*

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 30 mg/100 g prøve.

## METODE 11

### PRØVE FOR REDUCEREDE STOFFER I NATRIUM-, KALIUM- OG CALCIUMLACTAT (E 325, E 326, E 327)

1. **Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til påvisning af reducerende stoffer i natriumlactat (E 325), kaliumlactat (E 326) og calciumlactat (E 327).

2. **Definition**

Prøven for reaktion af Fehling's væske består af prøvens reaktion med Fehling's væske under de her beskrevne betingelser.

3. **Princip**

Reduktion af Fehling's væske af reducerende stoffer, almindeligvis bestående af reducerende sukker.

4. **Reagenser**

- 4.1. Fehling's væske A (6,93 g kobbersulfat pentahydrat  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) opløst i vand og fyldt op til 100 ml.
- 4.2. Fehling's væske B (34,6 g kaliumnatriumtartrat ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) og 10 g natriumhydroxid opløst i vand og fyldt op til 100 ml.

**5. Fremgangsmåde**

Af prøven afvejes 1 g med 1 mg's nøjagtighed, som opløses i 10 ml varmt vand. Der tilsættes 2 ml af Fehling's væske A (4.1) og 2 ml af Fehling's væske B (4.2), hvorefter blandingen koges i et minut, og det bemærkes, om der sker en farveforandring. Undertiden sker der en udfældning af calciumsulfat, men dette har ingen betydning for metoden.

**6. Angivelse af resultaterne****6.1. *Tolkning af grænseprøven***

Hvis der sker en farveforandring efter kogning (5), er prøven positiv og angiver tilstedeværelse af reducerende stoffer.

**6.2. *Påvisningsgrænse***

Grænsen for påvisning af reducerende stoffer udtrykt som glucose er 100 mg/100 g prøve.

**6.3. *Bemærkning***

6.3.1. Resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve skal være identiske.

6.3.2. Al Fehling's væske reagerer, hvis prøven indeholder 2 % glucose.

**METODE 12****BESTEMMELSE AF FLYGTIGE SYRER I ORTHOPHOSPHORSYRE (E 338)****1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af flygtige syrer, udtrykt som eddikesyre, i orthophosphorsyre (E 338).

**2. Definition**

Indholdet af flygtige syrer, udtrykt som eddikesyre, fås ved den her beskrevne metode.

**3. Princip**

Fortyndning af prøven og destillation af opløsningen. Titrering af destillatet med natriumhydroxid og beregning af surhedsgraden udtrykt som eddikesyre.

**4. Reagenser**

4.1. Opløsning af phenolphthalein, 1 % (m/v) i ethanol.

4.2. 0,01 mol/l natriumhydroxid.

**5. Apparatur**

5.1. Destillationskolbe med dråbefanger.

**6. Fremgangsmåde**

60 g af prøven afvejet med 50 mg's nøjagtighed fortyndes med 75 ml friskkogt, koldt vand i en destillationskolbe med dråbefanger (5.1), og 50 ml destilleres af. Der sættes nogle dråber phenolphthaleinopløsning (4.1) til destillatet og titreres med 0,01 mol/l natriumhydroxid (4.2), til opløsningen bliver blivende rødfarvet i 10 sekunder.

**7. Angivels af resultaterne****7.1. Formel og beregningsmåde**

Indholdet af flygtige syrer udtrykt i mg eddikesyre/kg er givet ved formelen:

$$\frac{600 \times V}{m_0}$$

hvor

V er antal ml 0,01 mol/l natriumhydroxid, som er brugt til neutralisering,

$m_0$  er massen i gram af prøve af orthophosphorsyre.

**7.2. Gentagelighed**

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 1 mg/100 g prøve.

**METODE 13****PRØVE FOR NITRATER I ORTHOPHOSPHORSYRE (E 338)****1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af nitrater i orthophosphorsyre (E 338).

**2. Definition**

Grænseprøve for nitrat, udtrykt som natriumnitrat, udføres efter den her beskrevne metode.

**3. Princip**

Tilsætning af indigocarmin til prøven i et medium af koncentreret svovlsyre. Affarvning ved oxidation som følge af oxiderende stoffer inklusiv nitrater.

**4. Reagenser**

4.1. 0,18 % (w/v) opløsning af indigocarmin: 0,18 natrium indigotin-disulfonat opløses i 100 ml vand.

4.2. 0,05 % (w/v) opløsning af natriumchlorid.

4.3. Koncentreret svovlsyre ( $\rho_{20} = 1,84$  g/ml).



**5. Fremgangsmåde**

2 ml af prøven fortyndes med natriumchloridopløsningen (4.2) til 10 ml. Der tilsættes 0,1 ml indigocarminopløsning (4.1) og 10 ml koncentreret svovlsyre (4.3) dråbevis og under afkøling. Bemærk om den blå farve holder sig i mere end 5 minutter.

**6. Angivelse af resultaterne****6.1. Tolkning af grænseprøven**

Hvis den blå farve forsvinder fuldstændigt inden for 5 minutter, er prøven positiv og indholdet af oxiderende stoffer inklusiv nitrat, udtrykt som natriumnitrat, større end 5 mg/kg prøve.

**6.2. Bemærkninger**

6.2.1. Der laves en blindbestemmelse.

6.2.2. Resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve skal være identiske.

6.2.3. Indigocarminopløsningen skal være fremstillet inden for de seneste 60 dage.

6.2.4. Et positivt resultat tilkendegiver, at prøven kan indeholde nitrater, og prøven må gentages ved anvendelse af ISO-metode nr. 3709-1976 »Phosphorsyre til industriel brug (inklusive levnedsmiddelin industrien). Bestemmelse af indhold af nitrogenoxider ved en spektrofotometrisk metode med 3,4-xylenol«.

**METODE 14**

BESTEMMELSE AF VANDUOPLØSELIGE STOFFER I MONONATRIUM-, DINATRIUM- OG TRINATRIUMORTHOPHOSPHAT SAMT I MONOKALIUM-, DIKALIUM- OG TRIKALIUMORTHOPHOSPHAT (E 339 i, E 339 ii, E 339 iii, E 340 i, E 340 ii, E 340 iii).

**1. Anvendelsesområde**

Metoden kan anvendes til bestemmelse af vandopløselige stoffer, som findes i:

- mononatriumorthosphat (E 339 i),
- dinatriumorthosphat (E 339 ii),
- trinatriumorthosphat (E 339 iii),
- monokaliumorthosphat (E 340 i),
- dikaliumorthosphat (E 340 ii),
- trikaliumorthosphat (E 340 iii).

**2. Definition**

Indholdet af vandopløselige stoffer fås ved den her beskrevne metode.

**3. Princip**

Opløsning af prøven i vand og frafiltrering af uopløselige stoffer. Remanensen tørres, vejes og udtrykkes som vandopløseligt stof.

**4. Apparat**

- 4.1. Porcelainsfilterdigel G 3 eller tilsvarende.
- 4.2. Eksikator med frisk aktiveret kiselgel eller tilsvarende vandsugende middel og forsynet med fugtighedsindikator.
- 4.3. Varmeskab ved  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- 4.4. Bæger af polypropylen på 400 ml.
- 4.5. Kogende vandbad.

**5. Fremgangsmåde**

10 g fosfatprøve afvejes med 10 mg's nøjagtighed, opløses i 100 ml varmt vand i et bæger af polypropylen (4.4) og anbringes i 15 minutter i et kogende vandbad (4.5).

Derefter filtreres opløsningen gennem den forud vaskede, tørrede og tærede filterdigel (4.1). Den uopløselige rest vaskes med varmt vand og tørres i varmeskabet (4.3) ved  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Efter fuldstændig tørring i to timer afkøles i eksikator og vejes. Tørring, afkøling og vejning gentages, indtil forskellen mellem to på hinanden følgende vejninger er mindre end 0,5 mg. I tilfælde af vægtforøgelse afvendes til beregningen det laveste af de fundne vejetal.

**6. Angivelse af resultaterne****6.1. Formel og beregningsmåde**

Indholdet af vandopløselige stoffer i prøven er givet ved følgende formel:

$$\frac{m_1}{m_0} \times 100$$

hvor

$m_1$  er massen i gram af remanensen efter tørring,

$m_2$  er massen i gram af indvejet prøve.

**6.2. Gentagelighed**

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 10 mg/100 g prøve.

**METODE 15****BESTEMMELSE AF pH I TILSÆTNINGSSTOFFER TIL LEVNEDSMIDLER****1. Anvendelsesområde**

Metoden giver generel vejledning til bestemmelse af pH i tilsætningsstoffer til levnedsmidler.

**2. Definition**

pH af et tilsætningsstof fås ved den her beskrevne metode.

**3. Princip**

pH i en vandig opløsning eller opslemning af stoffet bestemmes ved hjælp af glaselektrode, referenceelektrode og pH meter.

**4. Reagenser**

4.1. Til kalibrering af instrumentet bruges følgende pufferopløsning:

4.1.1. Pufferopløsning med pH 6,88 ved 20 °C, bestående af lige dele 0,05 mol/l monokaliumorthophosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) og 0,05 mol/l dinatriumorthophosphat dihydrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).

4.1.2. Pufferopløsning med pH 4,00 ved 20 °C, bestående af 0,05 mol/l kaliumhydrogenphthalat ( $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ ).

4.1.3. Pufferopløsning med pH 9,22 ved 20 °C, bestående af 0,05 mol/l natriumtetraborat decahydrat ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ).

4.2. Opløsning til fyldning af referenceelektroden: 3 mol/l eller mættet kaliumchloridopløsning (KCl), eller anden egnet opløsning foreskrevet af elektrodefabrikanten.

4.3. Destilleret, kuldioxidfrit vand med pH 5-6.

**5. Apparatur**

5.1. pH-meter med en nøjagtighed på 0,01 pH.

5.2. Kombineret glaselektrode (samlet i ét) eller enkelt glaselektrode og referenceelektrode.

5.3. Magnetomrører med magnetpinde og opvarmningsanordning.

5.4. Termometer gradinddelt fra 0 til 100 °C.

**6. Fremgangsmåde****6.1. Kalibrering af pH-metret**

Glaselektroden anbringes efter fabrikantens anvisninger. Kalibrering af glaselektroden på pH-metrets skala bør foretages regelmæssigt ved hjælp af pufferopløsninger, hvis pH er nøjagtigt kendt.

Elektroderne vaskes med vand og aftørres omhyggeligt med en blød klud, eller de skylles i vand og skylles derefter to gange med måle- eller kalibreringsopløsningen, og de anbringes endelig i måle- eller kalibreringsopløsningen.

Hvis måleopløsningen er sur, skal man anvende pufferopløsningerne med pH 4,00 (4.1.2) og pH 6,88 (4.1.1) til at kontrollere pH.

Hvis måleopløsningen er basisk, skal man anvende pufferopløsningerne med pH 9,22 (4.1.3) og pH 6,88 (4.1.1) til at kontrollere pH.

6.2. **Bestemmelse af måleopløsningens pH**

Koncentrationen af måleopløsningen eller fremstillingen af den opløsning, som skal gøres, skal være i overensstemmelse med Fællesskabernes direktiv vedrørende tilsætningsstoffer til levnedsmidler.

Opløsningen fremstilles som foreskrevet under anvendelse af destilleret vand (4.3) og indstilles til 20 °C under konstant omrøring.

Omrøringen standses, og glaselektroderne (5.2) anbringes i opløsningen. Efter to minutter aflæses pH på pH-metret (5.1).

7. **Angivelse af resultaterne**

7.1. **Gentagelighed**

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført samtidigt eller hurtigt efter hinanden under samme betingelser og af den samme person på den samme prøve må ikke overstige 0,05 pH-enheder.

8. **Bemærkninger**

Denne metode kan udelukkende anvendes på de krav til pH, som er fastsat i Fællesskabernes direktiver om tilsætningsstoffer til levnedsmidler, hvor tilsætningsstofferne er i opløsning i eller opslemmet i vand.

---

## KOMMISSIONENS BESLUTNING

af 28. juli 1981

om listen over de virksomheder i Forbundsrepublikken Brasilien, der er godkendt til indførsel til Fællesskabet af fersk kød af kvæg og enhovedede husdyr

(81/713/EØF)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det europæiske økonomiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 72/462/EØF af 12. december 1972 om sundhedsmæssige og veterinærpolitimæssige problemer i forbindelse med indførsel af kvæg og svin samt fersk kød fra tredjelande <sup>(1)</sup>, særlig artikel 4, stk. 1, og artikel 18, stk. 1, litra a) og b), og

ud fra følgende betragtninger:

virksomheder beliggende i tredjelande skal for at kunne få tilladelse til at udføre fersk kød til Fællesskabet opfylde de almindelige og særlige krav i direktiv 72/462/EØF;

Forbundsrepublikken Brasilien har i overensstemmelse med artikel 4, stk. 3, i direktiv 72/462/EØF fremsendt en liste over de virksomheder, der har tilladelse til at udføre til Fællesskabet;

en stor del af disse virksomheder, som Fællesskabet har kontrolleret på stedet, frembyder tilstrækkelige garantier på det hygiejniske plan, og de kan derfor optages på den første liste, udarbejdet i overensstemmelse med artikel 4, stk. 1, i nævnte direktiv, over virksomheder, fra hvilke indførsel af fersk kød kan tillades;

de øvrige virksomheder, der er foreslået af Brasilien, må undersøges på ny på grundlag af supplerende oplysninger om deres hygiejneniveau og mulighederne for, at de hurtigt kan tilpasses fællesskabsbestemmelserne; i mellemtiden bør disse virksomheder, for ikke med ét at afbryde den nuværende samhandel, have mulighed for midlertidigt at fortsætte deres udførsel af fersk kød til de medlemsstater, som kan acceptere dem;

denne beslutning bør derfor gennemgås påny og om nødvendigt ændres, alt efter de initiativer, der bliver

taget i så henseende, og de forbedringer, der er gennemført;

det bør bemærkes, at indførsel af fersk kød også er underkastet andre EF-veterinærbestemmelser, især på det veterinærpolitimæssige område, herunder særbestemmelserne for Danmark, Irland og Det forenede Kongerige;

betingelserne for indførsel af fersk kød fra virksomheder, der er opført på listen i bilaget er fortsat underlagt andetsteds fastsatte EF-bestemmelser, ligesom de skal være i overensstemmelse med traktatens generelle bestemmelser; i særdeleshed er indførsel fra tredjelande og videreforsendelse til andre medlemslande af visse kategorier af kød, som f. eks. stykker på mindre 3 kg eller kød, der indeholder restkoncentrationer af visse stoffer, der endnu ikke er omfattet af særlige harmoniserede bestemmelser, stadig underlagt bestemmelseslandets gældende sundhedslovgivning for indførsel;

de i denne beslutning fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Den stående Veterinærkomité —

VEDTAGET FØLGENDE BESLUTNING:

*Artikel 1*

1. De i bilaget anførte virksomheder i Forbundsrepublikken Brasilien, er godkendt til indførsel til Fællesskabet af fersk kød af kvæg og enhovedede husdyr.

2. Indførsel fra disse virksomheder er fortsat underkastet de andetsteds fastsatte EF-bestemmelser på det veterinære område, især på det veterinærpolitimæssige område.

*Artikel 2*

1. Medlemsstaterne forbyder indførsel af de i artikel 1, stk. 1, nævnte former for kød fra andre virksomheder end dem, der er anført i bilaget.

<sup>(1)</sup> EFT nr. L 302 af 31. 12. 1972, s. 28.

2. Dette forbud gælder dog først fra den 1. maj 1982 for virksomheder, der ikke er anført i bilaget, men som den 1. juli 1981 i medfør af artikel 4, stk. 3, i direktiv 72/462/EØF er officielt godkendte og foreslåede af de brasilianske myndigheder, medmindre der inden den 1. maj 1982 træffes anden afgørelse i overensstemmelse med artikel 4, stk. 1, i nævnte direktiv.

Kommissionen meddeler listen over disse virksomheder til medlemsstaterne.

*Artikel 3*

Denne beslutning træder i kraft den 1. oktober 1981.

*Artikel 4*

Denne beslutning tages op til fornyet gennemgang og eventuel ændring inden den 1. marts 1982.

*Artikel 5*

Denne beslutning er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 28. juli 1981.

*På Kommissionens vegne*

Gaston THORN

*Formand*

## BILAG

## FORTEGNELSE OVER VIRKSOMHEDER

## I. OKSEKØD

## A. Slagtehus og kødopskæringsvirksomheder

Virksomhedens nr.	Adresse
0005	Cooperativa Rural Serrana Ltda, Tupanciretã, Rio Grande do Sul
0226	Frigorífico Bordon SA, Bagé, Rio Grande do Sul
0385	Frigorífico Mouran SA, Andradina, São Paulo
0458	Frigorífico União SA, Presidente Epitácio, São Paulo
0834	Frigorífico Kaiowa SA, Presidente Venceslau, São Paulo
0906	Frigorífico T. Maia SA, Governador Valadares, Minas Gerais
1602	Bon Beef Indústria e Comércio de Carnes SA, Vinhedo, São Paulo
1651	Frigorífico Extremo Sul SA, Pelotas, Rio Grande do Sul
1926	Frigorífico Anselmi SA, Indústria de Carnes, Derivados e Conservas, Pelotas, Rio Grande do Sul

## B. Slagtehus

Virksomhedens nr.	Adresse
0076	SA Frigorífico Anglo-Barretos, São Paulo

## C. Kødopskæringsvirksomheder

Virksomhedens nr.	Adresse
0001	Cia de Alimentos do Brasil SA (COMABRA), Osasco, São Paulo

## II. HESTEKØD

## Slagtehus og kødopskæringsvirksomheder

Virksomhedens nr.	Adresse
0003	Frigorífico Yukijirushi do Paraná SA, Curitiba, Paraná
0924	Matadouro e Frigorífico Industrial SA (MAFISA), Belo Jardim, Pernambuco

## III. FRYSEHUSE

Virksomhedens nr.	Adresse
0072	Cefri Centrais de Estocagem Frigorificada Ltda, Mairinque, São Paulo
0078	Interfrio SA Comercial e Industrial, Pelotas, Rio Grande do Sul
0535	Matadouro e Frigorífico Industrial SA (MAFISA), Recife, Pernambuco
0933	Companhia Brasileira de Armazenamento (CIBRAZEM), Rio de Janeiro
0966	C. Sola, Comércio e Exportação SA, Três Rios, Rio de Janeiro
1075	Frigorífico de Cotia SA, Santos, São Paulo
1127	Companhia Brasileira de Armazenamento (CIBRAZEM), Curitiba, Paraná
1599	Martini Meat SA, Comércio, Importação e Exportação de Carnes, Paranaguá, Paraná
1945	Departamento Estadual de Portos Riós e Canais, Rio Grande, Rio Grande do Sul
1958	Avante SA Produtos Alimentícios, Santos, São Paulo
2176	Frimorite Frigorífico Ltda, São Gonçalo, Rio de Janeiro



## KOMMISSIONENS BESLUTNING

af 28. juli 1981

om ændring af listerne over de virksomheder i republikken Argentina og republikken Uruguay, der er godkendt til indførsel til Fællesskabet af fersk kød af kvæg, får og enhovede husdyr

(81/714/EØF)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE  
FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det europæiske økonomiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 72/462/EØF af 12. december 1972 om sundhedsmæssige og veterinærpolitimæssige problemer i forbindelse med indførsel af kvæg og svin samt fersk kød fra tredjelande <sup>(1)</sup>, særlig artikel 4, stk. 1, og artikel 18, stk. 1, litra a) og b), og

ud fra følgende betragtninger:

lister over virksomheder i Argentina og Uruguay, der er godkendt til indførsel til Fællesskabet af fersk kød af kvæg, får og enhovede husdyr, blev oprindeligt opstillet ved Kommissionens beslutninger af 25. november 1980, ændret ved beslutning 81/91/EØF <sup>(2)</sup> og 81/92/EØF <sup>(3)</sup>, senest ændret ved beslutning af 15. juli 1981;

yderligere kontrol på stedet har vist, at hygiejniveauet i andre virksomheder, der er foreslået af Argentina og Uruguay, er blevet forbedret og kan nu anses for tilfredsstillende; disse virksomheder kan derfor optages på de lister, der er opstillet i henhold til artikel 4, stk. 1, i direktiv 72/462/EØF;

det er derfor nødvendigt at udvide listerne over virksomheder;

de i denne beslutning fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Den stående Veterinærkomité —

VEDTAGET FØLGENDE BESLUTNING:

*Artikel 1*

Bilaget til beslutning 81/91/EØF affattes som angivet i bilag A til nærværende beslutning.

*Artikel 2*

Bilaget til beslutning 81/92/EØF affattes som angivet i bilag B til nærværende beslutning.

*Artikel 3*

Denne beslutning er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 28. juli 1981.

*På Kommissionens vegne*

Gaston THORN  
*Formand*

<sup>(1)</sup> EFT nr. L 302 af 31. 12. 1972, s. 28.

<sup>(2)</sup> EFT nr. L 58 af 5. 3. 1981, s. 39.

<sup>(3)</sup> EFT nr. L 58 af 5. 3. 1981, s. 43.

## BILAG A

## FORTEGNELSE OVER VIRKSOMHEDER

## I. OKSEKØD

## A. Slagtehus og kødopskrævningsvirksomheder

Virksomhedens nr.	Adresse
8	Corporación argentina de productores de carnes (CAP) cuatrerros, Daniel Cerri, Buenos Aires
9	Corporación argentina de productores de carnes (CAP) yuqueri, Concordia, Entre Ríos
13	Cia Swift de la Plata SA, Rosario, Santa Fé
15	Frigorífico Colón SA, Colon, Entre Ríos
16	Frigorífico regional Santa Elena SA, Santa Elena, Entre Ríos
20	SA Frigorífico Monte Grande Ltda, Monte Grande, Buenos Aires
89	Frigorífico Carcarana SACI, Carcarana, Santa Fé
249	Industrias frigoríficas Nelson SACIA, Nelson, Santa Fé
1113	La Morocha SAAICF, Villa Mercedes, San Luis
1333	Frigorífico argentino San Antonio (FASA), Parana, Entre Ríos
1344	Vizental y Cia SACIA, Ramirez, Entre Ríos
1352	Frigorífico Meatex Ciafiiesa, Alejandro Korn, Buenos Aires
1373	Frigorífico el Gentenario SA, Venado Tuerto, Santa Fé
1383	Barreca Hnos, Vivorata, Buenos Aires
1399	Frigorífico regional industria argentina SAIC (FRIA), Casilda, Santa Fé
1404	Pedro Hnos SAICIFA, Monte Chingolo, Buenos Aires
1408	Subpga SACIEI, Berazategui, Buenos Aires
1905	Frigorífico Yaguune SACIFA, Gonzalez Catan, Buenos Aires
1918	Cocarsa Cia de carneros SAICAI, San Fernando, Buenos Aires
1920	Frigorífico rioplatense SAICIF, General Pacheco, Buenos Aires
1921	San Telmo SACIAFIF, Mar de Plata, Buenos Aires
1930	Vizental y Cia SACIA, San José, Entre Ríos
1970	Frigorífico regional industrias alimenticias reconquista SA, Reconquista, Santa Fé
1984	Matadero y Frigorífico regional de Azul SAGIC, Azul, Buenos Aires
1989	Corporación argentina de productores de carnes (CAP), Rosario, Santa Fé
2012	Frigorífico el Duranzillo IFCA SAIFCA, Río Segundo, Córdoba
2019	Abastecedora delfino SACI, Tres Lomas, Buenos Aires
2052	Matadero y Frigorífico Antartico SAIC, Gonzalez Catan, Buenos Aires
2064	Frigorífico Siracusa SAACIIF, Bahía Blanca, Buenos Aires
2065	Frigorífico mediterraneos SAICIFA, Pajas Blancas
2067	Cia elaboradora de productos animales SAI CAGT, Pontevedra, Buenos Aires
2072	Frigorífico ganadero SACI AFIGMS, Curuzu Cuatia, Corrientes
2080	Caucan SA, Ezeiza, Buenos Aires

**B. Kødopskæringsvirksomheder**

Virksomhedens nr.	Adresse
18	Quickfood, Buenos Aires
273	Frigorífico guardia nacional SA, Guardia Nacional 1166, Cap. Federal
1122	Frigorífico Lafayette SAICAG, Lafayette 1740, Cap. Federal
1311	Frymat SAICFA, Buenos Aires 3680, Santa Fé
1920 a.	Frigorífico rioplatense SAICIF, General Pacheco, Buenos Aires

**II. FÅREKØD****A. Slagtehus og kødopskæringsvirksomheder**

Virksomhedens nr.	Adresse
8	Corporación argentina de productores de carnes (CAP) cuatrerros, Daniel Cerri, Buenos Aires
9	Corporación argentina de productores de carnes (CAP) yuqueri, Concordia, Entre Ríos
14	Corporación argentina de productores de carnes (CAP) Rio Grande, Tierra del fuego
97	Corporación argentina de productores de carnes (CAP), Pto. deseado, Santa Cruz
286	Frigorífico San Jorge SAIC, Bo Industrial, Comodoro Rivadavia
1352	Frigorífico Meatex Ciafiiesa, Alejandro Korn, Buenos Aires
1408	Subpga SACIEI, Berazategui, Buenos Aires
2006	Vizental y Cia SACIA, General Pico, La Pampa
2044	Frigorífico Siracusa SAACIIF, Comodoro Rivadavia, Chubut
2062	Finexcor, Pernal, Buenos Aires
2072	Frigorífico ganadero SACIAFIGMS, Curuzu Cuatia, Corrientes

**III. HESTEKØD****A. Slagtehus og kødopskæringsvirksomheder**

Virksomhedens nr.	Adresse
351	SA Indio Pampa ICAG, Trenque Lauquen, Buenos Aires
1369	Frigorífico Felmar SA, San Francisco, Buenos Aires
1400	Frigorífico Junchco SCA, Galeguay, Entre Ríos
1451	Lamar SRL, Mercedes, Buenos Aires
2020	Lamar SRL, Resistencia, Chaco

## IV. FRYSEHUSE

Virksomhedens nr.	Adresse
152	Comalfri, Pilar, Buenos Aires
267	Frymat SACIFA, Santa Fé
308	Frigorífico americano de morris Neremberg Ltda SA, Boulogne sur mer 260/2, Cap. Federal
391	Frigorífico Siracusa SAACIIF, Avellaneda, Buenos Aires
1326	Establecimiento azul SRL, Azul, Buenos Aires
1838	Guaicos SAIIF, Osvaldo Cruz 3047, Cap. Federal

**BILAG B****I. OKSEKØD****Slagtehus og kødopskrævningsvirksomheder**

Virksomhedens nr.	Adresse
1	Codadesa, Ruta 39, km. 143, departamento de Maldonado
2	Colonia, Tarariras, departamento de Colonia
3	Carrasco, Camino Carrasco 5, departamento de Canelones
7	Infrinsa, Ruta Brigadier-General Juan A. Lavalleja, km. 391, Ciudad de Melo, departamento de Cerro Largo
8	Canelones, Ciudad de Canelones, departamento de Canelones
12	Tacuarembó, Rutas 5 y 26, departamento de Tacuarembó
14	Efcsa (durazno), Santa Bernardina, departamento de Durazno
20	Comargen, Ruta 67 y Elias Regules, las Piedras, departamento de Canelones
106	Improgan, Camino Santos Lugares, km. 4, la Pas, departamento de Canelones
344	San Jacinto, Ruta 7, km. 59,5, San Jacinto, departamento de Canelones
394	Cybaran, La Caballada, departamento de Salto

**II. FÅREKØD**

Virksomhedens nr.	Adresse
1	Codadesa, Ruta 39, km. 143, departamento de Maldonado
2	Colonia, Tarariras, departamento de Colonia
3	Carrasco, Camino Carrasco 5, departamento de Canelones
7	Infrinsa, Ruta Brigadier-General Juan A. Lavalleja, km. 391, Ciudad de Melo, departamento de Cerro Largo
8	Canelones, Ciudad de Canelones, departamento de Canelones
12	Tacuarembó, Rutas 5 y 25, departamento de Tacuarembó
14	Efcsa (durazno), Santa Bernardina, departamento de Durazno
20	Comargen, Ruta 67 y Elias Regules, las Piedras, departamento de Canelones
106	Improgan, Camino Santos Lugares, km. 4, la Pas, departamento de Canelones
344	San Jacinto, Ruta 7, km. 59,5, San Jacinto, departamento de Canelones
394	Cybaran, La Caballada, departamento de Salto

**III. HESTEKØD**

Virksomhedens nr.	Adresse
303	Clay, Ruta 7, km. 40, departamento de Canelones

## IV. FRYSEHUSE

Virksomhedens nr.	Adresse
10	Frigorífico Modelo SA (Planta Propios), Br. Batten Ordones 3029, departamento de Montevideo
87	Santos Arbiza, Colombia 1257, departamento de Montevideo
175	Corfrisa, Las Piedras, departamento de Canelones
903	Acer, Rambla Baltasar Brum 3653, departamento de Montevideo

**KOMMISSIONENS NIENDE DIREKTIV**

af 31. juli 1981

**om fastsættelse af fællesskabsanalysemetoder til den officielle kontrol med foderstoffer**

(81/715/EØF)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE  
FÆLLESSKABER HAR —under henvisning til traktaten om oprettelse af Det  
europæiske økonomiske Fællesskab,under henvisning til Rådets direktiv 70/373/EØF af  
20. juli 1970 om indførelse af fællesskabsprøvedud-  
tagningsmåder og -analysemetoder for så vidt angår  
den officielle kontrol med foderstoffer<sup>(1)</sup>, senest  
ændret ved akten vedrørende Grækenlands tiltræ-  
delse, særlig artikel 2, og

ud fra følgende betragtninger:

ved nævnte direktiv er det fastsat, at den officielle  
kontrol med foderstoffer til konstatering af, om de  
betingelser, der er fastsat på grundlag af love og  
administrative bestemmelser om foderstoffernes  
beskaffenhed og sammensætning er opfyldt, foreta-  
ges efter fællesskabsprøvedtagningsmåder og -ana-  
lysemetoder;der er allerede ved Kommissionens direktiv 71/250/  
EØF<sup>(2)</sup>, 71/393/EØF<sup>(3)</sup>, 72/199/EØF<sup>(4)</sup>, 73/46/  
EØF<sup>(5)</sup>, 74/203/EØF<sup>(6)</sup>, 75/84/EØF<sup>(7)</sup>, 76/372/  
EØF<sup>(8)</sup> og 78/633/EØF<sup>(9)</sup>, senest ændret ved  
direktiv af 30. juli 1981, fastsat en række fællesskabs-  
analysemetoder; i betragtning af de resultater, der er  
nået siden da, bør der fastsættes en niende serie af  
metoder;de i dette direktiv fastsatte foranstaltninger er i over-  
ensstemmelse med udtalelse fra Den stående Foder-  
stofkomité —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

*Artikel 1*Medlemsstaterne foreskriver, at analyserne i forbin-  
delse med den officielle kontrol af foderstoffer for  
så vidt angår deres indhold af avoparein og monen-  
sin natrium skal foretages efter de metoder, der er  
beskrevet i bilaget.*Artikel 2*Medlemsstaterne sætter de nødvendige love og  
administrative bestemmelser i kraft for at efter-  
komme dette direktiv den 1. december 1981.

De underretter straks Kommissionen herom.

Udfærdiget i Bruxelles, den 31. juli 1981.

*Artikel 3*

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

*På Kommissionens vegne*  
Gaston THORN  
*Formand*

(1) EFT nr. L 170 af 3. 8. 1970, s. 2.  
(2) EFT nr. L 155 af 12. 7. 1971, s. 13.  
(3) EFT nr. L 279 af 20. 12. 1971, s. 7.  
(4) EFT nr. L 123 af 29. 5. 1972, s. 6.  
(5) EFT nr. L 83 af 30. 3. 1973, s. 21.  
(6) EFT nr. L 108 af 22. 4. 1974, s. 7.  
(7) EFT nr. L 32 af 5. 2. 1975, s. 26.  
(8) EFT nr. L 102 af 15. 4. 1976, s. 8.  
(9) EFT nr. L 206 af 29. 7. 1978, s. 43.

## BILAG

## 1. BESTEMMELSE AF AVOPARCIN VED DIFFUSION PÅ AGARPLADER

## 1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Metoden anvendes til bestemmelse af avoparcin i foderstoffer og forblandinger. Undergrænsen for bestemmelsen er 2 mg/kg (2 ppm). Tilstedeværelsen af polyether-antibiotika natrium kan påvirke bestemmelsen.

## 2. PRINCIP

Prøven ekstraheres med en blanding af acetone/vand/saltsyre. Ekstraktets antibiotiske styrke bestemmes ved at måle diffusionen af avoparcin i et agarsubstrat podet med *Bacillus subtilis*. Diffusionen viser sig ved dannelsen af zoner, hvori mikroorganismens vækst er hæmmet. Diameteren af disse zoner anses for at være direkte proportional med logaritmen til den antibiotiske styrke inden for de anvendte koncentrationer af antibiotikum.

## 3. TESTORGANISME: BACILLUS SUBTILIS ATCC 6633 (NCIB 8054)

## 3.1. Opbevaring af stamkulturen

*Bacillus subtilis* podes på skråagar med næringssubstrat (4.1) og inkuberes natten over ved 30 °C. Kulturen opbevares i køleskab ved ca. 4 °C. Den ompodes en gang om måneden.

3.2. Fremstilling af sporesuspension <sup>(1)</sup>

Væksten fra et skråagarglas (3.1) opslættes med 2 til 3 ml sterilt vand. Denne opslætning anvendes til podning af 300 ml næringssubstrat (4.1) i en Roux-kolbe, og der inkuberes i tre til fem dage ved 30 °C. Når sporedannelsen er blevet bekræftet ved mikroskopi, opslættes væksten i 15 ml ethanol (4.2), og der omrystes. Opslætningen kan opbevares ved ca. 4 °C i mindst fem måneder.

## 4. NÆRINGSSUBSTRATER OG REAGENSER

4.1. Næringssubstrat <sup>(2)</sup>

Pepton	6,0 g
Trypton	4,0 g
Gærekstrakt	3,0 g
Kødekstrakt	1,5 g
Glucose	1,0 g
Agar	15,0 g
Vand	1 000 ml
pH 6,5 (efter sterilisering).	

4.2. Ethanol 20 pct. (u/v): 200 ml ethanol fortyndes med 800 ml vand.

4.3. Analysen saltsyre, d: 1,18-1,19.

<sup>(1)</sup> Andre metoder kan anvendes, forudsat at det er bevist, at de giver tilsvarende sporesuspensioner.

<sup>(2)</sup> Ethvert næringssubstrat af tilsvarende sammensætning, som er i handelen, og som giver de samme resultater, kan anvendes.



- 4.4. Analysen natriumhydroxidopløsning, 2M.
- 4.5. Phosphatbufferopløsning, 0,1M:  
Kaliumdihydrogenphosphat,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  13,6 g  
Vand til 1 000 ml  
pH justeres til 4,5.
- 4.6. Blanding af acetone/vand/saltsyre (4.3): 65/32,5/2,5 (v/v/v).
- 4.7. Standardpræparat: avoparcinsulfat af kendt styrke.

## 5. STANDARDOPLØSNINGER

En nøjagtigt afvejet mængde på ca. 10 mg standardpræparat (4.7) opløses i en phosphatbufferopløsning (4.5) og fortyndes med denne på en sådan måde, at der fremkommer en stamopløsning indeholdende 100  $\mu\text{g}$  avoparcin pr. ml. Opbevaret i en tilproppet flaske ved 4 °C vil denne opløsning være holdbar i indtil syv dage.

### 5.1. Til forblandinger

Ved successiv fortynding med bufferopløsningen (4.5) fremstilles følgende opløsninger af stamopløsningen:

$S_8$	4,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
$S_4$	2,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
$S_2$	1,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
$S_1$	0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$

### 5.2. Til foderstoffer

Ved successiv fortynding med bufferopløsningen (4.5) fremstilles følgende opløsninger af stamopløsningen:

$S_8$	2,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
$S_4$	1,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
$S_2$	0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$
$S_1$	0,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$

## 6. FREMSTILLING AF EKSTRAKT OG TESTOPLØSNINGER

### 6.1. Forblandinger

Med en nøjagtighed på 10 mg afvejes tilstrækkelig meget af prøven til, at den indeholder mellem 10 og 100 mg avoparcin. Mængden overføres til en 100 ml målekolbe med 60 ml af blandingen (4.6) og rystes i 15 minutter på en mekanisk ryster. pH kontrolleres og justeres om nødvendigt med saltsyre (4.3) til pH 2. Kolben fyldes op til mærket med blandingen (4.6), og indholdet blandes godt. En portion filtreres gennem et passende filterpapir (f. eks. Whatman nr. 1), idet de første 5 ml af filtratet bortkastes. Udtag en delmængde af filtratet og indstil pH på 4,5 med natriumhydroxid opløsning (4.4). Denne delmængde fortyndes med bufferopløsning (4.5) til en forventet avoparcinkoncentration på 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $= U_8$ ).

Af denne opløsning fremstilles opløsning  $U_4$  (forventet indhold: 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),  $U_2$  (forventet indhold: 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) og  $U_1$  (forventet indhold: 0,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) ved successiv fortynding (1+1) med bufferopløsning (4.5).

### 6.2. Foderstoffer

50,0 g af prøven afvejes og blandes med 100 ml af blandingen (4.6) i 30 minutter på en mekanisk ryster. Ekstraktet klæres ved centrifugering (der anvendes tilproppede centrifugerør), og en delmængde af det klarede ekstrakt (se tabel nedenfor) justeres til pH 4,5 med natriumhydroxidopløsning (4.4). Denne delmængde fortyndes med bufferopløsning (4.5) til  $U_8$  (se tabel nedenfor).

Af denne opløsning fremstilles opløsning  $U_4$  (forventet indhold: 1,0  $\mu\text{g/ml}$ ),  $U_2$  (forventet indhold: 0,5  $\mu\text{g/ml}$ ) og  $U_1$  (forventet indhold: 0,25  $\mu\text{g/ml}$ ) ved successiv fortynding (1 + 1) med bufferopløsning (4.5).

Forventet indhold af avoparcin i mg/kg	5	7,5	10	15	20	40
Prøvens vægt i g ( $\pm 0,1$ g)	50	50	50	50	50	50
Blandingens volumen (4.6) (ml)	100	100	100	100	100	100
Det klarede ekstrakts volumen (ml)	20	15	20	15	20	10
Det endelige volumen (ml): $U_8$	25	25	50	50	100	100
Forventet $U_8$ -koncentration i $\mu\text{g/ml}$	2	ca. 2	2	ca. 2	2	2

## 7. TESTMETODE

### 7.1. Podning af testsubstratet

Testsubstratet (4.1) podes med sporesuspensionen (3.2) ved 50-60 °C. På plader med testsubstrat (4.1) bestemmes forud den mængde sporesuspension, der giver de største og tydeligste hæmningszoner med de forskellige koncentrationer af avoparcin.

### 7.2. Forberedelse af pladerne

Diffusionen i agar udføres på plader med de fire koncentrationer af standardopløsningen ( $S_8$ ,  $S_4$ ,  $S_2$ ,  $S_1$ ) og de fire koncentrationer af testopløsningen ( $U_8$ ,  $U_4$ ,  $U_2$  og  $U_1$ ). Disse fire koncentrationer af ekstrakt og standard skal nødvendigvis alle findes på hver plade. Der bør derfor vælges plader, der er store nok til at rumme mindst otte huller i agarsubstratet med en diameter på 10-13 mm og mindst 30 mm mellem hullernes centrum. Testen kan udføres på plader, der består af en glasplade med en aluminium- eller plastring ovenpå, 200 mm i diameter og 20 mm høj.

Pladerne påhældes substrat (4.1), der er podet som angivet i 7.1, så der opnås et ca. 2 mm tykt lag (60 ml til en plade på 200 mm i diameter). Pladerne anbringes vandret til størkning, hullerne udstanses, og nøjagtigt afmålte mængder af test- og standardopløsning anbringes i hullerne (mellem 0,10 og 0,15 ml pr. hul, afhængig af diameteren). Hver koncentration skal anbringes mindst fire gange, således at hver bestemmelse er baseret på en aflæsning af 32 hæmningszoner.

### 7.3. Inkubation

Pladerne inkuberes i 16-18 timer ved 30 °C.

## 8. BEDØMMELSE

Hæmningszonernes diameter måles med 0,1 mm nøjagtighed. Middeldiameteren for hver koncentration afsættes på semilogaritmisk papir, således at de viser logaritmen til koncentrationen i forhold til hæmningszonernes diameter. Der indtegnes den »bedst tilpassede« rette linje for henholdsvis standardopløsningen og ekstraktet, som vist nedenfor.

Det »bedst tilpassede punkt« for den laveste værdi for standardopløsningen (SL) bestemmes ved hjælp af formelen:

$$(a) \quad SL = \frac{7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8}{10}$$

Det »bedst tilpassede punkt« for den højeste værdi for standardopløsningen (SH) bestemmes ved hjælp af formlen:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

På tilsvarende måde beregnes det »bedst tilpassede punkt« for den laveste værdi for ekstraktet (UL) og den højeste værdi for ekstraktet (UH) ved at erstatte  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_4$  og  $S_8$  med  $U_1$ ,  $U_2$ ,  $U_4$  og  $U_8$  i ovennævnte formler.

De beregnede SL- og SH-værdier indtegnes på samme millimeterpapir og forbindes til den »bedst tilpassede linje« for standardopløsningen. UL- og UH-værdierne indtegnes på tilsvarende måde og forbindes til den »bedst tilpassede linje« for ekstraktet.

Hvis der ikke er stoffer til stede, som forstyrrer analysen, vil linjerne være parallelle. Til praktiske formål kan linjerne betragtes som værende parallelle, hvis værdierne (SH-SL) og (UH-UL) ikke afviger mere end 10 % fra middelværdien.

Såfremt linjerne viser sig ikke at være parallelle, kan enten  $U_1$  og  $S_1$  eller  $U_8$  og  $S_8$  udelades, og SL, SH, UL og UH beregnes ved hjælp af de alternative formler, for at opnå de alternative »bedst tilpassede linjer«:

$$(a') \quad SL = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \quad \text{eller} \quad \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad SH = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \quad \text{eller} \quad \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

og tilsvarende for UL og UH. Det kontrolleres som ovenfor, om de alternative »bedst tilpassede linjer« er parallelle. Det noteres i den endelige rapport, at resultatet er beregnet ud fra tre koncentrationer.

Hvis linjerne kan betragtes som værende parallelle, beregnes logaritmen til den relative styrke (log. A) ved hjælp af en af følgende formler:

For fire koncentrationer

$$\log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

For tre koncentrationer

$$\log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1} \quad \text{eller}$$

of

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Faktisk styrke = formodet styrke  $\times$  relativ styrke.

Hvis den relative styrke ligger uden for området 0,5-2,0, gentages analysen med den fornødne tilpasning af avoparcinindholdet i ekstrakterne eller, hvor dette ikke er muligt, i standardopløsningerne. Hvis den relative styrke ikke kan bringes inden for det krævede interval, må de resultater, der opnås, betragtes som tilnærmede og dette bør anføres i den endelige rapport.

Hvis linjerne ikke kan betragtes som værende parallelle, gentages bestemmelsen. Hvis der stadig ikke opnås parallellitet, må bestemmelsen betragtes som utilfredsstillende.

## 9. REPETERBARHED

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser, udført på samme prøve af samme analytiker, bør ikke overstige:

- 2 mg/kg i absolut værdi for et indhold af avoparcin på fra 2 og indtil 10 mg/kg;
- 20 % i forhold til den højeste værdi for et indhold på mere end 10 og indtil 25 mg/kg;
- 5 mg/kg i absolut værdi for et indhold på mere end 25 og indtil 50 mg/kg;
- 10 % i forhold til den højeste værdi for et indhold på over 50 mg/kg.

## 2. BESTEMMELSE AF MONENSIN NATRIUM VED DIFFUSION PÅ AGARPLADER

### 1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Metoden anvendes til bestemmelse af monensin natrium i foderstoffer og forblandinger. Undergrænsen for bestemmelsen er 10 mg/kg (10 ppm) <sup>(1)</sup>.

### 2. PRINCIP

Prøven ekstraheres med 90 pct. methanol. Ekstraktets behandling afhænger af prøvens indhold af monensin natrium. Dets antibiotiske styrke bestemmes ved at måle diffusionen af monensin natrium i et agarsubstrat podet med *Bacillus subtilis*. Diffusionen viser sig ved dannelsen af zoner, hvori mikroorganismens vækst er hæmmet. Diameteren af disse zoner anses for at være direkte proportional med logaritmen til den antibiotiske styrke inden for de anvendte koncentrationer af antibiotikum. Metoden er mindre følsom ved tilstedeværelsen af natriumioner.

### 3. TESTORGANISME: BACILLUS SUBTILIS ATCC 6633 (NCIB 8054)

#### 3.1. Opbevaring af stamkulturen

*Bacillus subtilis* podes på skråagar med næringssubstrat (4.1) og inkuberes natten over ved 30 °C. Kulturen opbevares i køleskab ved ca. 4 °C. Den ompodes én gang om måneden.

#### 3.2. Fremstilling af sporesuspension <sup>(2)</sup>

Væksten fra et skråagarglas (3.1) oplægges med 2-3 ml sterilt vand. Denne oplægning anvendes til podning af 300 ml næringssubstrat (4.1) i en Roux-kolbe, og der inkuberes i tre til fem dage ved 30 °C. Når sporedannelsen er blevet bekræftet ved mikroskopi, oplægges væksten i 15 ml ethanol (4.3), og der omrystes. Oplægningen kan opbevares ved ca. 4 °C i mindst fem måneder.

### 4. NÆRINGSSUBSTRATER OG REAGENSER

#### 4.1. Næringssubstrat <sup>(3)</sup>

Tryptone	10,0 g
Gærekstrakt	3,0 g
Kødekstrakt	1,5 g
Glukose	1,0 g
Agar (efter kvalitet)	10,0 til 20,0 g
Vand	1 000 ml
pH 6,5 (efter sterilisering)	

#### 4.2. Testsubstrat

Glukose	10,0 g
Gærekstrakt	2,5 g
Kaliumhydrogenphosphat, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,69 g
Kaliumdihydrogenphosphat, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,45 g
Agar (efter kvalitet)	10,0 til 20,0 g
Vand	1 000 ml
pH 6,0 (efter sterilisering)	

<sup>(1)</sup> 1 mg monensin natrium svarer til 1 000 »UK« enheder.

<sup>(2)</sup> Andre metoder kan anvendes, forudsat at det er bevist, at de giver tilsvarende sporesuspensioner.

<sup>(3)</sup> Ethvert næringssubstrat af tilsvarende sammensætning, som er i handelen, og som giver de samme resultater, kan anvendes.

- 4.3. Ethanol 20 pct. (v/v): 200 ml ethanol fortyndes med 800 ml vand.
- 4.4. Methanol, vandfri.
- 4.5. Methanol 90 pct. (v/v): 900 ml methanol (4.4) fortyndes med 100 ml vand.
- 4.6. Methanol 50 pct. (v/v): 500 ml methanol (4.4) fortyndes med 500 ml vand.
- 4.7. Aluminiumoxid, granuleret (Alcoa F, 20 mesh: Activated Alumina UGI: F Lancaster and Co., eller tilsvarende).
- 4.8. Standardpræparat: monensin natrium af kendt styrke (f. eks. fra International Laboratory for Biological Standards, Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey KT15 3NB, England).

## 5. APPARATUR

- 5.1. Vakuumsrotationsfordamper med 250 ml rundbundet kolbe.
- 5.2. Glasrør til kromatografi, indvendig diameter: 25 mm, længde: 400 mm, med en åbning på 2 mm i diameter i den ene ende.
- 5.3. Glasrør til kromatografi, indvendig diameter: 11 mm, længde: ca. 300 mm, med en åbning på 2 mm i diameter i den ene ende.

## 6. STANDARDOPLØSNINGER

En nøjagtigt afvejede mængde standardpræparat (4.8) opløses i methanol (4.4) og fortyndes således, at der fremkommer en stamopløsning indeholdende 800 µg monensin natrium pr. ml. Opbevaret i tilproppede flasker ved 4 °C vil denne opløsning være holdbar i indtil to uger.

Af denne stamopløsning fremstilles ved successiv fortynding med 50 % methanol (4.6) følgende opløsninger:

S <sub>8</sub>	8,0 µg/ml
S <sub>4</sub>	4,0 µg/ml
S <sub>2</sub>	2,0 µg/ml
S <sub>1</sub>	1,0 µg/ml

## 7. FREMSTILLING AF EKSTRAKTET

### 7.1. Ekstraktion

#### 7.1.1. Forblandinger

2,0 g af prøven afvejes, der tilsættes 100 ml 90 pct. methanol (4.5), hvorefter der homogeniseres og centrifugeres i få minutter. Supernatanten fortyndes med 50 pct. methanol (4.6) indtil et forventet monensin natrium indhold på 8 µg/ml (= U<sub>8</sub>).

#### 7.1.2. Foderstoffer med et monensin natrium indhold på ikke under 50 ppm

10,0 til 20,0 g af prøven afvejes, og der tilsættes 100 ml 90 % methanol (4.5), hvorefter der homogeniseres i 15 minutter og stilles til bundfældning.

En vatprop anbringes i den snævre ende af et glasrør (5.2), og der tilsættes aluminiumoxid (4.7), samtidig med at der bankes let på røret, indtil søjlen er 75 til 80 mm høj.

Ekstraktet dekanteres gennem aluminiumoxidsøjlen, og filtratet opsamles. 30 ml af filtratet fortyndes til 50 ml med vand. Derefter fortyndes med 50 % methanol (4.6) for at opnå et forventet monensin natrium indhold på 8 µg/ml (= U<sub>8</sub>).

**7.1.3. Foderstoffer med et monensin natrium indhold på under 50 ppm (indtil 10 ppm)**

10,0 til 20,0 g af prøven afvejes, og der tilsættes 100 ml 90 pct. methanol (4.5), hvorefter der homogeniseres i 15 minutter. Derefter centrifugeres, til væsken er klar.

Hvis prøven indeholder 20 ppm af monensin natrium tages 40 ml af supernatanten; hvis prøven indeholder 10 ppm tages 80 ml som inddampes til tørhed under vakuum på en rotationsfordamper (5.1) ved højst 40 °C. Remanensen opløses i 10 ml 90 pct. methanol (4.5).

En vatprop anbringes i den snævre ende af et glasrør (5.3), og der tilsættes aluminiumoxid (4.7), samtidig med at der bankes let på røret, indtil søjlen er 75 til 80 mm høj.

Methanolopløsningen af remanensen dekanteres gennem aluminiumoxid-søjlen, og filtratet opsamles. Søjlen udvaskes med 10 ml 90 pct. methanol (4.5), som tilsættes filtratet.

Opløsningen inddampes til tørhed under vakuum i en rotationsfordamper (5.1) ved under 40 °C. Remanensen opløses i 10 ml vandfri methanol (4.4), og der fyldes op til 20 ml med vand. Opløsningen centrifugeres ved mindst 4 000 omdr./min. i mindst fem minutter. Derefter fortyndes med 50 % methanol (4.6) for at opnå et forventet monensin natrium indhold på 8 µg/ml (= U<sub>8</sub>).

**7.2. Testopløsninger**

Opløsningerne U<sub>4</sub> (forventet indhold: 4 µg/ml), U<sub>2</sub> (forventet indhold: 2 µg/ml) og U<sub>1</sub> (forventet indhold: 1 µg/ml) fremstilles af opløsning U<sub>8</sub> ved successiv fortynding (1 + 1) med 50 % methanol (4.6).

**8. TESTMETODE****8.1. Podning af testsubstratet**

Testsubstratet (4.2) podes med sporesuspensionen (3.2) ved 50 til 60 °C. På plader med testsubstrat (4.2) bestemmes forud den mængde sporesuspension, der giver de største og tydeligste hæmningszoner med de forskellige koncentrationer af monensin natrium.

**8.2. Forberedelse af pladerne**

Diffusionen i agar udføres på plader med de fire koncentrationer af standardopløsningen (S<sub>8</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>2</sub> og S<sub>1</sub>) og de fire koncentrationer af testopløsningen (U<sub>8</sub>, U<sub>4</sub>, U<sub>2</sub> og U<sub>1</sub>). Disse fire koncentrationer af ekstrakt og standard skal nødvendigvis alle findes på hver plade. Der bør derfor vælges plader, der er store nok til at rumme mindst otte huller i agarsubstratet med en diameter på 10 til 13 mm og mindst 30 mm mellem hullernes centrum. Testen kan udføres på plader, der består af en glasplade med en aluminium- eller plastring ovenpå, 200 mm i diameter og 20 mm høj.

Pladerne påhældes substrat (4.2), der er podet som angivet i 8.1, så der opnås et ca. 2 mm tykt lag (60 ml til en plade på 200 mm i diameter). Pladerne anbringes vandret til storkning, hullerne udstanses, og nøjagtigt afmålte mængder af test- og standardopløsning anbringes i hullerne (mellem 0,10 og 0,15 ml pr. hul, afhængig af diameteren). Hver koncentration skal anbringes mindst 4 gange, således at hver bestemmelse er baseret på en aflæsning af 32 hæmningszoner.

**8.3. Inkubering**

Pladerne inkuberes i ca. 18 timer ved 35 til 37 °C.

**9. BEDØMMELSE**

Hæmningszonernes diameter måles med 0,1 mm nøjagtighed. Middeldiameteren for hver koncentration afsættes på semilogaritmisk papir, således at de viser logaritmen til koncentrationen i forhold til hæmningszonernes diameter. Der indtegnes den »bedst tilpassede« rette linie for henholdsvis standardopløsningen og ekstraktet, f.eks. som vist nedenfor.

Det »bedst tilpassede punkt« for den laveste værdi for standardopløsningen (SL) bestemmes ved hjælp af formlen:

$$(a) \quad SL = \frac{7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8}{10}$$

Det »bedst tilpassede punkt« for den højeste værdi for standardopløsningen (SH) bestemmes ved hjælp af formlen:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

På tilsvarende måde beregnes det »bedst tilpassede punkt« for den laveste værdi for ekstraktet (UL) og den højeste værdi for ekstraktet (UH) ved at erstatte  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_4$  og  $S_8$  med  $U_1$ ,  $U_2$ ,  $U_4$  og  $U_8$  i ovennævnte formler.

De beregnede SL- og SH-værdier indtegnes på samme millimeterpapir og forbindes til den »bedst tilpassede linie« for standardopløsningen. UL- og UH-værdierne indtegnes på tilsvarende måde og forbindes til den »bedst tilpassede linie« for ekstraktet.

Hvis der ikke er stoffer til stede, som forstyrrer analysen, vil linierne være parallelle. Til praktiske formål kan linierne betragtes som værende parallelle, hvis værdierne (SH-SL) og (UH-UL) ikke afviger mere end 10 % fra middelværdien.

Såfremt linierne viser sig ikke at være parallelle, kan enten  $U_1$  og  $S_1$  eller  $U_8$  og  $S_8$  udelades, og SL, SH, UL og UH beregnes ved hjælp af de alternative formler, for at opnå de alternative »bedst tilpassede linier«:

$$(a') \quad SL = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \text{ eller } \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad SH = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \text{ eller } \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

og tilsvarende for UL og UH. Det kontrolleres som ovenfor, om de alternative »bedst tilpassede linier« er parallelle. Det noteres i den endelige rapport, at resultatet er beregnet ud fra tre koncentrationer.

Hvis linierne kan betragtes som værende parallelle, beregnes logaritmen til den relative styrke (log A) ved hjælp af én af følgende formler:

For fire koncentrationer

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

For tre koncentrationer

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1} \text{ eller}$$

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Faktisk styrke = formodet styrke x relativ styrke.

Hvis den relative styrke ligger uden for området 0,5 til 2,0, gentages analysen med den fornødne tilpasning af monensin natrium koncentrationen i ekstrakterne eller, hvis dette ikke er muligt, i standardopløsningerne. Hvis den relative styrke ikke kan bringes inden for det krævede interval, må de resultater, der opnås, betragtes som tilnærmede, og dette bør anføres i den endelige rapport.

Hvis linierne ikke kan betragtes som værende parallelle, gentages bestemmelsen. Hvis der stadig ikke opnås parallellitet, må bestemmelsen betragtes som utilfredsstillende.

## 10. REPETERBARHED

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser, udført på samme prøve af samme analytiker, bør ikke overstige:

- 20 % i forhold til den højeste værdi for et indhold på mere end 10 g indtil 25 mg/kg;
- 5 mg/kg i absolut værdi for et indhold på mere end 25 g indtil 50 mg/kg;
- 10 % i forhold til den højeste værdi for et indhold på over 50 mg/kg.







