

Ἔκδοση
στήν ἑλληνική γλῶσσα

Νομοθεσία

Περιεχόμενα

I Πράξεις, γιά τήν ἰσχὺ τῶν ὁποίων ἀπαιτεῖται δημοσίευση

.....

II Πράξεις, γιά τήν ἰσχὺ τῶν ὁποίων δέν ἀπαιτεῖται δημοσίευση

Ἐπιτροπή

81/712/EOK:

- ★ Πρώτη ὁδηγία τῆς Ἐπιτροπῆς τῆς 28ης Ἰουλίου 1981 περί καθορισμοῦ τῶν κοινοτικῶν μεθόδων ἀναλύσεως γιά τόν ἔλεγχο τῶν κριτηρίων καθαρότητος ὀρισμένων πρόσθετων ὑλῶν πού χρησιμοποιοῦνται στά τρόφιμα 1

81/713/EOK:

- ★ Ἀπόφαση τῆς Ἐπιτροπῆς τῆς 28ης Ἰουλίου 1981 περί τοῦ πίνακος τῶν ἐγκεκριμένων ἐγκαταστάσεων τῆς Δημοκρατίας τῆς Βραζιλίας γιά τήν εἰσαγωγή στήν Κοινότητα νωποῦ βοείου κρέατος καθώς καί κρέατος τῶν κατοικιδίων μωνύχων 28

81/714/EOK:

- ★ Ἀπόφαση τῆς Ἐπιτροπῆς τῆς 28ης Ἰουλίου 1981 περί τροποποιήσεως τῶν πινάκων τῶν ἐγκεκριμένων ἐγκαταστάσεων τῆς Δημοκρατίας τῆς Ἀργεντινῆς καί τῆς Δημοκρατίας τῆς Οὐρουγουάης γιά τήν εἰσαγωγή στήν Κοινότητα νωποῦ βοείου καί προβείου κρέατος καθώς καί κρέατος τῶν κατοικιδίων μωνύχων 32

81/715/EOK:

- ★ Ἐνάτη ὁδηγία τῆς Ἐπιτροπῆς τῆς 31ης Ἰουλίου 1981 περί καθορισμοῦ τῶν μεθόδων κοινοτικῆς ἀναλύσεως γιά τόν ἐπίσημο ἔλεγχο τῶν ζωοτροφῶν 38

II

(Πράξεις, για την ισχύ των οποίων δεν απαιτείται δημοσίευση)

ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΡΩΤΗ ΟΔΗΓΙΑ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 28ης Ιουλίου 1981

περί καθορισμού των κοινοτικών μεθόδων ανάλυσεως για τον έλεγχο των κριτηρίων καθαρότητας όρισμένων πρόσθετων υλών που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα

(81/712/ΕΟΚ)

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη,

τή συνθήκη περί ιδρύσεως της Ευρωπαϊκής Οικονομικής Κοινότητας,

τήν οδηγία του Συμβουλίου της 23ης Οκτωβρίου 1962 περί προσεγγίσεως των νομοθεσιών των Κρατών μελών σχετικά με τις χρωστικές ύλες που επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα (1), όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την οδηγία 78/144/ΕΟΚ (2), και ιδίως τό άρθρο 11 παράγραφος 2,

τήν οδηγία 64/54/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 5ης Νοεμβρίου 1963 περί προσεγγίσεως των νομοθεσιών των Κρατών μελών σχετικά με τα συντηρητικά που επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα (3), όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την οδηγία 79/40/ΕΟΚ (4), και ιδίως τό άρθρο 8 παράγραφος 2,

τήν οδηγία 70/357/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 13ης Ιουλίου 1970 περί προσεγγίσεως των νομοθεσιών των Κρατών μελών σχετικά με τις ουσίες που έχουν αντιοξειδωτικά αποτελέσματα και επιτρέπε-

ται να χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα (5), όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την οδηγία 78/143/ΕΟΚ (6), και ιδίως τό άρθρο 5 παράγραφος 2,

Έκτιμώντας:

ότι οι διατάξεις αυτές προβλέπουν ότι τά γενικά και ειδικά κριτήρια καθαρότητας των εν λόγω πρόσθετων υλών ελέγχονται βάσει κοινοτικών μεθόδων ανάλυσεως·

ότι πρέπει να εκδοθεί μία πρώτη σειρά μεθόδων των οποίων έληξε ή μελέτη·

ότι οι μέθοδοι ανάλυσεως της παρούσας οδηγίας συμφωνούν με τή γνώμη της Μόνιμης Έπιτροπής Τροφίμων,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΟΔΗΓΙΑ:

Άρθρο 1

Τά Κράτη μέλη επιβάλλουν τή χρήση των μεθόδων που περιγράφονται στο παράρτημα II και υπάγονται στό πεδίο εφαρμογής του παραρτήματος I τής παρούσας οδηγίας, για τίς αναλύσεις που είναι

(1) ΕΕ αριθ. 115 της 11. 11. 1962, σ. 2645/62.

(2) ΕΕ αριθ. L 44 της 15. 2. 1978, σ. 20.

(3) ΕΕ αριθ. 12 της 27. 1. 1964, σ. 161/64.

(4) ΕΕ αριθ. L 13 της 19. 1. 1979, σ. 50.

(5) ΕΕ αριθ. L 157 της 18. 7. 1970, σ. 31.

(6) ΕΕ αριθ. L 44 της 15. 2. 1978, σ. 18.

ανάγκαιες για τόν έλεγχο των γενικών και ειδικών κριτηρίων καθαρότητας όρισμένων πρόσθετων ύλων.

Άρθρο 2

Τά Κράτη μέλη θέτουν σε ισχύ τις ανάγκαϊες νομοθετικές, κανονιστικές και διοικητικές διατάξεις προκειμένου να συμμορφωθούν προς τήν παρούσα όδηγία τό άργότερο στις 20 Φεβρουαρίου 1983 και ένημερώνουν άμέσως περί αυτού τήν Έπιτροπή.

Άρθρο 3

Η παρούσα όδηγία άπευθύνεται στα Κράτη μέλη.

Έγινε στις Βρυξέλλες, στις 28 Ίουλίου 1981.

Γιά τήν Έπιτροπή
Karl-Heinz NARJES
Μέλος τής Έπιτροπής

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΩΝ ΚΟΙΝΟΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΠΡΟΣΘΕΤΩΝ ΥΛΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

.....

II. ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΥΛΕΣ

- II.1. Προσδιορισμός των ουσιών που μπορούν να ληφθούν κατόπιν εκχυλίσεως με διαιθυλικό αιθέρα από τις διαλυτές στο νερό οργανοσουλφονικές χρωστικές ύλες που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα. Παράρτημα II, μέθοδος 1.

III. ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΑ

- III.1. Προσδιορισμός του μυρμηκικού οξέος, των μυρμηκικών αλάτων και άλλων οξειδούμενων προσμίξεων εντός του όξιου οξέος (E 260), του όξιου καλίου (E 261), του διοξικού νατρίου (E 262) και του όξιου άσβεστίου (E 263). Παράρτημα II, μέθοδος 2.
- III.2. Προσδιορισμός των μη πτητικών ουσιών εντός του προπιονικού οξέος (E 280). Παράρτημα II, μέθοδος 3.
- III.3. Προσδιορισμός της απώλειας μάζας κατά την ξήρανση του νιτρώδους νατρίου (E 250). Παράρτημα II, μέθοδος 4.
- III.4. Ανίχνευση του σαλικυλικού οξέος εντός του π-ύδροξυ-βενζοϊκού αιθυλεστέρα (E 214), του μετά νατρίου παραγώγου του π-ύδροξυ-βενζοϊκού αιθυλεστέρα (E 215), του π-ύδροξυ-βενζοϊκού προπυλεστέρα-κ (E 216), του μετά νατρίου παραγώγου του π-ύδροξυ-βενζοϊκού προπυλεστέρα-κ (E 217), του π-ύδροξυ-βενζοϊκού μεθυλεστέρα (E 218) και του μετά νατρίου παραγώγου του π-ύδροξυ-βενζοϊκού μεθυλεστέρα (E 219). Παράρτημα II, μέθοδος 5.
- III.5. Προσδιορισμός του ελεύθερου όξιου οξέος εντός του διοξικού νατρίου (E 262). Παράρτημα II, μέθοδος 6.
- III.6. Προσδιορισμός του όξιου νατρίου εντός του διοξικού νατρίου (E 262). Παράρτημα II, μέθοδος 7.
- III.7. Ανίχνευση των αλδευδών εντός του σορβικού οξέος (E 200), των μετά νατρίου, καλίου ή άσβεστίου σορβικών αλάτων (E 201, E 202, E 203) και του προπιονικού οξέος (E 280). Παράρτημα II, μέθοδος 8.

IV. ΜΕΣΑ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- IV.1. Προσδιορισμός του δείκτη ομάδων των υπεροξειδίων των λεκιθινών (E 322). Παράρτημα II, μέθοδος 9.
- IV.2. Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των λεκιθινών (E 322) σε αδιάλυτες στο τολουόλιο ουσίες. Παράρτημα II, μέθοδος 10.
- IV.3. Ανίχνευση των αναγωγικών ουσιών εντός των γαλακτικών αλάτων νατρίου, καλίου και άσβεστίου (E 325, E 326, E 327). Παράρτημα II, μέθοδος 11.
- IV.4. Προσδιορισμός των πτητικών οξέων εντός του όρθοφωσφορικού οξέος (E 338). Παράρτημα II, μέθοδος 12.

- IV.5. Ανίχνευση των νιτρικών αλάτων εντός του όρθοφωσφορικού όξεος (E 338). Παράρτημα II, μέθοδος 13.
- IV.6. Προσδιορισμός των αδιάλυτων στο νερό ουσιών που εμφανίζονται εντός των όρθοφωσφορικών αλάτων: δισόξινο φωσφορικό νάτριο, μονόξινο φωσφορικό νάτριο, φωσφορικό νάτριο, διόξινο φωσφορικό κάλιο, μονόξινο φωσφορικό κάλιο και φωσφορικό κάλιο (E 339(i), E 339(ii), E 339(iii), E 340(i), E 340(ii), E 340(iii)). Παράρτημα II, μέθοδος 14.

V. ΓΕΝΙΚΟΤΗΤΕΣ

- V.1. Προσδιορισμός του pH των πρόσθετων στα τρόφιμα ύλων. Παράρτημα II, μέθοδος 15.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΕΩΣ ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΜΕ ΤΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΟΣΘΕΤΩΝ ΥΛΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Προετοιμασία του δείγματος

1.1. Γενικότητες

Η μάζα του εργαστηριακού δείγματος, που προορίζεται για ανάλυση, πρέπει κανονικά να είναι ίση προς 50 g εκτός αν, για κάποιο ειδικό προσδιορισμό, απαιτείται σημαντικότερη ποσότητα.

1.2. Προετοιμασία του δείγματος

Τό δείγμα πρέπει να ομογενοποιηθεί πριν από την ανάλυση.

1.3. Διατήρηση

Τό δείγμα αφού έτοιμαστεί σύμφωνα με τά ανωτέρω, διατηρείται πάντοτε σε έρμητικά κλεισμένο δοχείο, για να αποφευχθεί κάθε αλλοίωση.

2. Αντιδραστήρια

2.1. Νερό

2.1.1. Κάθε φορά που αναφέρεται ή λέξη νερό για τά διαλύματα, τίς αραιώσεις ή τίς έκπλύσεις, πρόκειται πάντα για άπεσταγμένο νερό ή για άπιονισμένο νερό αντίστοιχης καθαρότητας.

2.1.2. Κάθε φορά που αναφέρεται ή λέξη «διάλυμα» ή «αραίωση», χωρίς να αναφέρεται αντιδραστήριο, πρόκειται για ύδατικό διάλυμα.

2.2. Χημικά προϊόντα

Όλα τά χημικά προϊόντα πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας πλην αντίθετων ένδειξεων.

3. Συσκευές

3.1. Κατάλογος συσκευών

Ό αναφερόμενος στόν κατάλογο τώ υλικών έξοπλισμός είναι ειδικής χρήσεως με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά.

3.2. Αναλυτικός ζυγός

Μέ τόν όρο αναλυτικός ζυγός νοείται ζυγός με εύαισθησία τουλάχιστον ίση προς 0,1 mg.

4. Διατύπωση τών αποτελεσμάτων

4.1. Αποτελέσματα

Τό αποτέλεσμα που αναφέρεται στό δελτίο αναλύσεως είναι ή μέση τιμή που λαμβάνεται από δύο τουλάχιστον προσδιορισμούς, τών όποιών ή επαναληπτικότητα είναι ικανοποιητική.

- 4.2. **Υπολογισμός του ποσοστού επί τοις εκατό**
Πλήν ιδιαιτέρων οδηγιών, τὰ ἀποτελέσματα ἐκφράζονται σέ ποσοστά ἐπί τοις εκατό (m/m) τοῦ ἀρχικοῦ δείγματος, ὅπως αὐτό ἐφθασε στό ἐργαστήριο.
- 4.3. **Ἀριθμός δεκαδικῶν ψηφίων**
Τό ἀποτέλεσμα δέν πρέπει νά ἐκφράζεται μέ ἀριθμό πού φέρει περισσότερα δεκαδικά ψηφία ἀπ' ὅσα ἐπιτρέπει ἡ ἀκρίβεια τῆς μεθόδου.

ΜΕΘΟΔΟΣ 1

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, ΠΟΥ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΛΗΦΘΟΥΝ ΚΑΤΟΠΙΝ
ΕΚΧΥΛΙΣΕΩΣ ΜΕ ΔΙΑΙΘΥΛΙΚΟ ΑΙΘΕΡΑ, ΑΠΟ ΤΙΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΣΤΟ ΝΕΡΟ
ΟΡΓΑΝΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΥΛΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

1. **Ἀντικείμενο καί πεδίο ἐφαρμογῆς**
Ἡ μέθοδος ἐπιτρέπει τόν προσδιορισμό τῶν οὐσιῶν, πού μποροῦν νά ληφθοῦν κατόπιν ἐκχυλίσεως μέ διαιθυλικό αἰθέρα, ἀπό τίς χρωστικές ὀργανοσουλφονικές ὕλες, τίς διαλυτές σέ νερό, ἐλλεῖπει ὑποστρώματος.
2. **Ὅρισμός**
Μέ τή μέθοδο πού περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται ἡ περιεκτικότητα σέ οὐσίες πού λαμβάνονται κατόπιν ἐκχυλίσεως μέ διαιθυλικό αἰθέρα.
3. **Ἀρχή**
Ἐκχύλιση τῆς χρωστικῆς μέ διαιθυλικό αἰθέρα καί ζύγιση τοῦ ξηροῦ ἰζήματος μετά ἀπό ἐξάτμιση τοῦ αἰθέρα.
4. **Ἀντιδραστήρια**
- 4.1. Ξηρός διαιθυλικός αἰθέρας ἀπαλλαγμένος ὑπεροξειδίων (ἡ ξήρανση ἐπιτυγχάνεται μέ πρόσφατα πυρωμένο χλωριούχο ἀσβέστιο).
5. **Συσκευές**
- 5.1. Συσκευή Soxhlet μέ σφαιρική φιάλη.
- 5.2. Ξηραντήρας μέ Silika gel (SiO₂) σέ ἀνυδρή κατάσταση, ἢ μέ ἄλλο ἀντίστοιχο ὑγροσκοπικό μέσο καί ἐφοδιασμένος μέ δείκτη ὑγρασίας.
- 5.3. Ἀναλυτικός ζυγός.
- 5.4. Κλίβανος ρυθμισμένος στούς 85 ± 2 °C.
6. **Ἐκτέλεση τοῦ πειράματος**
10 g χρωστικῶν ὕλων ζυγίζονται, μέ προσέγγιση 10 mg, ἐπί χάρτινου ἠθμοῦ. Ὁ χάρτινος ἠθμός διπλώνεται καί εἰσάγεται ἐντός χάρτινου κυλίνδρου πού σφραγίζεται μέ βάμβακα ἀπαλλαγμένο ἀπό λιπαρές οὐσίες. Ἡ ἐκχύλιση πραγματοποιεῖται μέ διαιθυλικό αἰθέρα (4.1) ἐπί 6 ὥρες ἐντός συσκευῆς ἐκχυλίσεως Soxhlet (5.1). Πραγματοποιεῖται ἐξά-

τμιση σε όσο το δυνατόν χαμηλότερη θερμοκρασία. Η σφαιρική φιάλη της συσκευής Soxhlet, αφού ζυγιστεί καταλλήλως μαζί με το υπόλειμμα, τοποθετείται στον κλίβανο (5.4). Ξηραίνεται στους 85 ± 2 °C επί είκοσι λεπτά. Το υπόλειμμα αφήνεται να ψυχθεί, καλυμμένο με ύαλο ωρολογίου, σε ξηραντήρα (5.2) και στη συνέχεια ζυγίζονται η σφαιρική φιάλη και το υπόλειμμα.

Η ξήρανση και η ζύγιση επαναλαμβάνονται μέχρις ότου η διαφορά μεταξύ δύο διαδοχικών ζυγίσεων είναι μικρότερη των 0,5 mg. Υποθέτοντας μία πιθανή αύξηση της μάζας, για τον υπολογισμό θα ληφθεί υπόψη ο μικρότερος αριθμός που θα καταγραφεί.

7. Διατύπωση των αποτελεσμάτων

7.1. Τύπος και τρόπος υπολογισμού

Η περιεκτικότητα σε ουσίες που εκχυλίζονται με αιθέρα υπολογίζεται σε ποσοστά επί τοις εκατό του δείγματος, βάσει του κατωτέρω τύπου:

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

όπου:

m_1 = μάζα, σε γραμμάρια, του ιζήματος μετά από εξάτμιση,

m_0 = αρχική μάζα, σε γραμμάρια, της ποσότητας του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε.

7.2. Έπαναληπτικότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 20 mg για 100 g δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ 2

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΜΥΡΜΗΚΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΤΩΝ ΜΥΡΜΗΚΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΟΞΕΙΔΟΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΣΜΙΞΕΩΝ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (E 260), ΤΟΥ ΟΞΙΚΟΥ ΚΑΛΙΟΥ (E 261), ΤΟΥ ΔΙΟΞΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ (E 262) ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΞΙΚΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ (E 263)

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό του μυρμηκικού οξέος, των μυρμηκικών αλάτων και άλλων οξειδούμενων προσμίξεων, υπολογιζόμενων σε μυρμηκικό οξύ, εντός:

- του οξικού οξέος (E 260),
- του οξικού καλίου (E 261),
- του διοξικού νατρίου (E 262),
- του οξικού ασβεστίου (E 263).

2. Όρισμός

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε μυρμηκικό οξύ, σε μυρμηκικά άλατα και σε άλλες οξειδούμενες προσμίξεις.

3. Αρχή

Μετά από κατεργασία του προς ανάλυση δείγματος με περίσσεια υπερμαγγανικού καλίου σε αλκαλικό περιβάλλον, λαμβάνεται διοξείδιο του μαγγανίου. Το τελευταίο καθώς και η περίσσεια του υπερμαγγανικού καλίου όγκομετρούνται με ιωδιομετρία, αφού προηγουμένως το διάλυμα καταστεί όξινο. Η συγκέντρωση των οξειδούμενων προσμίξεων εκφράζεται σε μυρμηκικό οξύ.

4. Αντιδραστήρια

- 4.1. Ίωδιούχο κάλιο.
- 4.2. Ύπερμαγγανικό κάλιο 0,02 mol/l.
- 4.3. Άνθρακικό νάτριο (άνυδρο).
- 4.4. Θειοθειικό νάτριο, 0,1 mol/l.
- 4.5. Διάλυμα άμύλου (περίπου 1 % m/v).
- 4.6. Άραιωμένο διάλυμα θειικού οξέος: 90 ml θειικού οξέος ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$) στο οποίο προστίθεται νερό μέχρι τό 11.

5. Συσκευές

- 5.1. Ζέον ύδρόλουτρο.
- 5.2. Αναλυτικός ζυγός.

6. Έκτέλεση του πειράματος

Στήν περίπτωση πού τό πρός άνάλυση δείγμα παρουσιάζεται με τή μορφή ελεύθερου οξέος, 10 g, ζυγίζόμενα με προσέγγιση 10 mg, διαλύονται σε 70 ml νερού, όπου προστίθεται διάλυμα, περιέχον 10 g άνυδρου άνθρακικού νατρίου (4.3) διαλυμένου σε 30 ml νερού. Αν τό δείγμα παρουσιάζεται με τή μορφή άλατος, 10 g, ζυγισμένα με προσέγγιση 10 mg, διαλύονται σε 100 ml νερού όπου προστίθεται 1 g άνυδρου άνθρακικού νατρίου (4.3) αναδεύοντας μέχρι πλήρους διαλύσεως. Προστίθεται 20 ml ύπερμαγγανικού καλίου 0,02 mol/l (4.2) και τό όλο διάλυμα θερμαίνεται σε ζέον ύδρόλουτρο επί 15 λεπτά. Τό διάλυμα αφήνεται νά ψυχθεί και στή συνέχεια προστίθενται 50 ml άραιού θειικού οξέος και (4.6) 0,5 g ιωδιούχου καλίου (4.1) Τό μείγμα αναδεύεται μέχρι διαλύσεως του ίζήματος του διοξειδίου του μαγγανίου. Όγκομετρείται με διάλυμα θειικού νατρίου 0,1 mol/l (4.4) μέχρις ότου τό διάλυμα χρωσθεί ελαφρώς κίτρινο, όποτε προστίθενται μερικώς σταγόνες διαλύματος άμύλου (4.5) και συνεχίζεται ή όγκομέτρηση μέχρι πλήρους άποχρωματισμού.

7. Διατύπωση των άποτελεσμάτων

7.1. Τύπος και τρόπος ύπολογισμού

Τό ποσοστό μυρμηκικού οξέος, μυρμηκικών άλάτων και άλλων όξειδούμενων προσμίξεων ύπολογίζεται σε μυρμηκικό όξύ βάσει του κατωτέρου τύπου:

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

όπου:

- a = μοριακότητα του ύπερμαγγανικού καλίου,
- b = μοριακότητα του θειοθειικού νατρίου,
- m_0 = άρχική μάζα του δείγματος σε γραμμάρια,
- V = όγκος, σε ml, του θειοθειικού νατρίου (0,1 mol/l) πού χρησιμοποιείται για τήν όγκομέτρηση.

7.2. Έπαναληπτικότητα

Ή διαφορά μεταξύ των άποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, πού πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από τό ίδιο άτομο και με τό ίδιο μείγμα, δέν πρέπει νά υπερβαίνει τά 5 mg για 100 g δείγματος.

8. **Παρατηρήσεις**
- 8.1. Σέ 10 g δείγματος, 11,3 ml θειοθεικού νατρίου 0,1 mol/l ισοδυναμούν με 0,2 % μυρμηκικού όξέος.
- 8.2. Άπουσία μυρμηκικών αλάτων, ό όγκος του θειοθεικού νατρίου άνέρχεται σέ 20 ml, αλλά άν υπάρχει πάνω από 0,27 % (m/m) μυρμηκικού όξέος, ή περίσσεια $KMnO_4$ δέν έπαρκει και ό λαμβανόμενος όγκος του θειοθεικού όξέος σταθεροποιείται στά 8 ml. Στην περίπτωση αυτή, έπαναλάβετε τόν προσδιορισμό χρησιμοποιώντας μικρότερη ποσότητα δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ 3

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΠΙΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (E 280)

1. **Άντικείμενο και πεδίο έφαρμογής**
- Ά μέθοδος έπιτρέπει τόν ποσοτικό προσδιορισμό των μή πτητικών ούσιων έντός του προπιονικού όξέος (E 280).
2. **Όρισμός**
- Μέ τή μέθοδο πού περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται ή περιεκτικότητα του προπιονικού όξέος σέ μή πτητικές ούσιες.
3. **Άρχή**
- Τό δείγμα έξατμίζεται και ξηραίνεται στους 103 ± 2 °C. Τό ίζημα αναλύεται με βαρυμετρία.
4. **Συσκευές**
- 4.1 Κάψα από διοξείδιο του πυριτίου ή λευκόχρυσο, για 100 g δείγματος.
- 4.2 Άλεκτρικός κλίβανος, ρυθμισμένος στους 103 ± 2 °C.
- 4.3 Άναλυτικός ζυγός.
- 4.4 Ζέον ύδρόλουτρο.
- 4.5 Ξηραντήρας με Silica gel (SiO_2) σέ άνυδρη κατάσταση ή με άλλο αντίστοιχο ύγροσκοπικό μέσο και έφοδιασμένος με δείκτη ύγρασίας.
5. **Έκτέλεση του πειράματος**
- Ζυγίζονται 100 g περίπου προπιονικού όξέος με προσέγγιση 0,1 g σέ κάψα (4.1) πού έχει ξηρανθεί καταλλήλως και τής όποιας έχει προσδιορισθεί ή τάρα. Έντός ζέοντος ύδρόλουτρου και κάτω από άπαγωγέα ύφίσταται έξάτμιση. Όταν έξατμιστεί όλο τό προπιονικό όξύ, τό υπόλειμμα ύφίσταται ξήρανση επί 1 ώρα έντός κλιβάνου (4.2) στους 103 ± 2 °C. Στή συνέχεια τοποθετείται σέ ξηραντήρα μέχρις ότου ψυχθεί. Ζυγίζεται. Ά όλη διαδικασία έπαναλαμβάνεται μέχρις ότου ή διαφορά μεταξύ δύο διαδοχικών ζυγίσεων δέν ύπερβαίνει τά 0,5 mg: Άποθέτοντας μία πιθανή αύξηση τής μάζας, για τόν ύπολογισμό θά ληφθεί ύπόψη ό μικρότερος άριθμός πού θά καταγραφεί.

6. Διατύπωση των αποτελεσμάτων**6.1. Τύπος και τρόπος υπολογισμού**

Η επί τοις εκατό περιεκτικότητα του δείγματος σε μη πτητικές ουσίες υπολογίζεται βάσει του κατωτέρω τύπου:

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

όπου:

m_1 = μάζα του υπολείμματος της εξεπίστευσης, σε γραμμάρια,

m_0 = αρχική μάζα της ποσότητας του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε, σε γραμμάρια.

6.2. Επαναληψιμότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 5 mg για 100 g δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ 4**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΜΑΖΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΞΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΝΙΤΡΩΔΟΥΣ ΝΑΤΡΙΟΥ (E 250)****1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής**

Η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό της απώλειας μάζας κατά την ξήρανση του νιτρώδους νατρίου (E 250).

2. Ορισμός

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε υγρασία του νιτρώδους νατρίου, ή όποια αντιστοιχεί στην απώλεια μάζας του τελευταίου.

3. Αρχή

Προσδιορισμός της απώλειας μάζας μετά από θέρμανση στους 103 ± 2 °C.

4. Συσκευές

4.1. Ηλεκτρικός κλίβανος, ρυθμισμένος στους 103 ± 2 °C.

4.2. Γυάλινο σκευός με επίπεδο πυθμένα, διαμέτρου 60-80 mm και με τοιχώματα ύψους τουλάχιστον 25 mm, εφοδιασμένο με καπάκι.

4.3. Ξηραντήρας με Silika gel (SiO_2) σε άνυδρη κατάσταση ή με άλλο αντίστοιχο υγροσκοπικό μέσο και εφοδιασμένος με δείκτη υγρασίας.

4.4. Αναλυτικός ζυγός.

5. Εκτέλεση του πειράματος

Αφαιρείται το καπάκι του γυάλινου σκεύους (4.2) και σκευός και καπάκι τοποθετούνται επί μία ώρα εντός κλιβάνου (4.1), ρυθμισμένου στους 103 ± 2 °C. Το καπάκι επανατοποθετείται επί του σκεύους (4.2) και αφήνονται να ψυχθούν, μέχρις ότου φτάσουν τη

θερμοκρασία του περιβάλλοντος, μέσα σε ξηραντήρα (4.3). Το σκεύος με το καπάκι του (4.2) ζυγίζεται με προσέγγιση 10 mg. Έντός του σκεύους, με το καπάκι του, ζυγίζονται 10 g δείγματος με προσέγγιση 10 mg. Αφού αφαιρεθεί το καπάκι, σκεύος και καπάκι τοποθετούνται επί μία ώρα σε κλίβανο (4.1), ρυθμισμένο στους $103 \pm 2^\circ\text{C}$. Το καπάκι τοποθετείται επί του σκεύους, που αφήνεται να ψυχθεί, μέσα στον ξηραντήρα (4.3), επί μία ώρα μέχρις ότου φτάσει τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Στη συνέχεια ζυγίζεται με προσέγγιση 10 mg. Οι τρεις τελευταίες διαδικασίες (θέρμανση, ψύξη, ζύγιση) επαναλαμβάνονται μέχρις ότου η διαφορά μάζας μεταξύ δύο διαδοχικών μετρήσεων δεν υπερβαίνει τα 10 mg. Υποθέτοντας τυχόν αύξηση της μάζας, για τον υπολογισμό θα ληφθεί υπόψη ο μικρότερος αριθμός που θα καταγραφεί.

6. Διατύπωση των αποτελεσμάτων

6.1. Τύπος και τρόπος υπολογισμού

Η επί τοις εκατό (m/m) απώλεια μάζας του δείγματος, κατά την ξήρανση, υπολογίζεται βάσει του κατωτέρω τύπου:

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

όπου:

m_1 = ή μάζα του σκεύους, σε γραμμάρια,

m_2 = ή μάζα, σε γραμμάρια, του σκεύους μαζί με το δείγμα, πριν από την ξήρανση,

m_3 = ή μάζα, σε γραμμάρια, του σκεύους μαζί με το δείγμα, μετά την ξήρανση.

6.2. Επαναληψιμότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 100 mg για 100 g δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ 5

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ π -ΥΔΡΟΞΥ-BENZOΪΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ (E 214), ΤΟΥ ΜΕΤΑ ΝΑΤΡΙΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΤΟΥ π -ΥΔΡΟΞΥ-BENZOΪΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ (E 215), ΤΟΥ π -ΥΔΡΟΞΥ-BENZOΪΚΟΥ ΠΡΟΠΥΛΕΣΤΕΡΑ-κ (E 216), ΤΟΥ ΜΕΤΑ ΝΑΤΡΙΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΤΟΥ π -ΥΔΡΟΞΥ-BENZOΪΚΟΥ ΠΡΟΠΥΛΕΣΤΕΡΑ-κ (E 217), ΤΟΥ π -ΥΔΡΟΞΥ-BENZOΪΚΟΥ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ (E 218) ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΕΤΑ ΝΑΤΡΙΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΤΟΥ π -ΥΔΡΟΞΥ-BENZOΪΚΟΥ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ (E 219)

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος επιτρέπει την ανίχνευση του σαλικυλικού οξέος εντός του π -ύδροξυ-βενζοϊκού αιθυλεστέρα (E 214), του π -ύδροξυ-βενζοϊκού προπυλεστέρα-κ (E 216), του π -ύδροξυ-βενζοϊκού μεθυλεστέρα (E 218) και των μετά νατρίου παραγώγων αυτών (E 215, E 217 και E 219).

2. Όρισμός

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται το όριο ανίχνευσης του σαλικυλικού οξέος.

3. Αρχή

Διάλυμα σαλικυλικού οξέος λαμβάνει παρουσία έναμμωνίου θειικού σιδήρου (III), μόβ χροιά, της οποίας η ένταση συγκρίνεται με εκείνη του διαλύματος αναφοράς.

4. Αντιδραστήρια

- 4.1. Διάλυμα 0,2 % (m/v) έναμμωνίου θειικού σιδήρου (III): 0,2 g έναμμωνίου θειικού σιδήρου (III) με 12 μόρια κρυσταλλικού νερού διαλύονται σε 50 ml νερού προστίθενται 10 ml νιτρικού όξεος αραιωμένου προς 10 % (v/v) και στη συνέχεια προστίθεται νερό μέχρι τα 100 ml.
- 4.2. Αιθανόλη, 95 % (v/v).
- 4.3. Διάλυμα σαλικυλικού όξεος περιεκτικότητας 0,1 g/l.
- 4.4. Θεϊκό όξύ, 1 mol/l.

5. Συσκευές

- 5.1. Σωλήνας Nessler όλικής χωρητικότητας 60 ml περίπου, βαθμολογημένος μέχρι τα 50 ml.

6. Έκτέλεση του πειράματος

- 6.1. *Δείγματα του π-ύδροξυ-βενζοϊκού αίθυλεστέρα, του π-ύδροξυ-βενζοϊκού προπυλεστέρα-κ και του π-ύδροξυ-βενζοϊκού μεθυλεστέρα*

6.1.1. 0,1 g του προς άναλυση δείγματος, που ζυγίστηκε με προσέγγιση 1 mg διαλύεται εντός 10 ml αιθανόλης 95 % (v/v) (4.2). Το διάλυμα αυτό μεταφέρεται σε βαθμολογημένο σωλήνα Nessler (5.1) και προστίθεται νερό μέχρι τα 50 ml. Μετά από άνατάραξη του μείγματος προστίθεται 1 ml διαλύματος έναμμωνίου θειικού σιδήρου (III) (4.1). Το μείγμα άναταράζεται εκ νέου και άφήνεται να ήρεμήσει επί ένα λεπτό.

6.1.2. Κατά τον ίδιο τρόπο έτοιμάζεται διάλυμα άναφοράς, όπως περιγράφεται στο 6.1.1 χρησιμοποιώντας 1 ml από το διάλυμα του σαλικυλικού όξεος (4.3) αντί και στη θέση του δείγματος.

6.1.3. Γίνεται σύγκριση μεταξύ της χροιάς του δοκιμαστικού σωλήνα που περιέχει το προς άναλυση δείγμα και εκείνης του διαλύματος άναφοράς.

- 6.2. *Δείγματα των μετά νατρίου παραώγων του π-ύδροξυ-βενζοϊκού μεθυλεστέρα, αίθυλεστέρα και κ-προπυλεστέρα.*

6.2.1. Έπαναλαμβάνεται ή διαδικασία που περιγράφεται στο 6.1.1 καθιστώντας το διάλυμα όξινο (pH = 5) με προσθήκη θεϊκού όξεος 1 mol/l (4.4) πριν από την άραίωση μέχρι 50 ml.

6.2.2. Έπαναλαμβάνεται ή διαδικασία που περιγράφεται στο 6.1.2.

6.2.3. Έπαναλαμβάνεται ή διαδικασία που περιγράφεται στο 6.1.3.

7. Διατύπωση των άποτελεσμάτων

- 7.1. *Έρμηνεία της δοκιμασίας άνιχνεύσεως*

Άν ή μώβ χροιά του δοκιμαστικού σωλήνα που περιέχει το προς άναλυση δείγμα είναι πιο έντονη από εκείνη του διαλύματος άναφοράς το πείραμα θεωρείται ότι έχει θετικά άποτελέσματα και το δείγμα περιέχει πλέον του 0,1 % σαλικυλικού όξεος.

- 7.2. *Εύαισθησία*

Τό όριο άνιχνεύσεως, που μπορεί να προσδιοριστεί με τη μέθοδο αυτή, είναι 30 mg σαλικυλικού όξεος για 100 g δείγματος.

- 7.3. *Παρατήρηση*

Τά άποτελέσματα δύο παράλληλων προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από τό ίδιο άτομο και με τό ίδιο δείγμα, πρέπει να είναι ταυτόσημα.

ΜΕΘΟΔΟΣ 6**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΔΙΟΞΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ
(E 262)****1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής**

Η παρούσα μέθοδος επιτρέπει την ανίχνευση οξικού οξέος εντός του διοξικού νατρίου (E 262).

2. Όρισμός

Μέ τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται ή περιεκτικότητα σε οξικό οξύ.

3. Αρχή

Έξουδετέρωση του οξικού οξέος με καυστικό νάτριο παρουσία φαινολοφθαλείνης.

4. Αντιδραστήρια

4.1. Διάλυμα 1 % (m/v) φαινολοφθαλείνης με αιθανόλη.

4.2. Καυστικό νάτριο 1 mol/l.

5. Συσκευές

5.1. Αναλυτικός ζυγός.

6. Εκτέλεση του πειράματος

Ζυγίζονται 3 g περίπου του προς ανάλυση δείγματος, με προσέγγιση 1 mg και διαλύονται εντός 50 ml νερού. Προστίθενται δύο έως τρεις σταγόνες διαλύματος φαινολοφθαλείνης (4.1) και γίνεται όγκομέτρηση με καυστικό νάτριο 1 mol/l (4.2) μέχρις ότου η κόκκινη χροιά που οφείλεται στη μετατροπή της φαινολοφθαλείνης διατηρηθεί επί πέντε δευτερόλεπτα.

7. Διατύπωση των αποτελεσμάτων**7.1. Τύπος και τρόπος ύπολογισμού**

Η επί τοις εκατό (m/m) περιεκτικότητα του δείγματος σε οξικό οξύ ύπολογίζεται βάσει του κατωτέρω τύπου:

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

όπου:

V = όγκος, σε ml, του διαλύματος καυστικού νατρίου που χρησιμοποιήθηκε για την όγκομέτρηση (4.2.),

c = ή μοριακότητα του διαλύματος του καυστικού νατρίου, σε mol/l,

m₀ = ή αρχική μάζα, σε γραμμάρια, του δείγματος.

7.2. Έπαναληπτικότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 500 mg για 100 g δείγματος.

8. Παρατήρηση

Ύπαιτυνται 20 ml καυστικού νατρίου 1 mol/l για τήν όγκομέτρηση 3 g δείγματος πού περιέχει 40 % όξικό όξύ.

ΜΕΘΟΔΟΣ 7**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΟΞΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΔΙΟΞΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ (E 262)****1. Αντικείμενο καί πεδίο εφαρμογής**

Ή παρούσα μέθοδος επιτρέπει τόν προσδιορισμό του όξικού νατρίου καί του νερού, υπό τή μορφή όξικών αλάτων, έντός του διοξικού νατρίου (E 262).

2. Όρισμός

Μέ τόν όρο «περιεκτικότητα σε όξικό νάτριο» νοείται ή περιεκτικότητα σε όξικό νάτριο καί νερό, έκφρασμένη σε όξικό νάτριο, όπως προσδιορίζεται από τήν κατωτέρω μέθοδο.

3. Αρχή

Κατάλληλη αραίωση του δείγματος με ψυχρό όξικό όξύ καί όγκομέτρηση με διάλυμα αναφοράς υπερχλωρικού όξέος παρουσία δείκτου violet cristallisé.

4. Αντιδραστήρια

4.1. Ψυχρό όξικό όξύ ($\rho_{20}^{\circ}\text{C} = 1,049 \text{ g/ml}$ για όγκομέτρηση σε μή ύδατικό περιβάλλον).

4.2. Violet cristallisé CI n° 42555 υπό τή μορφή διαλύματος με 0,2 % (m/v) έντός ψυχρού όξικού όξέος.

4.3. Φθαλικό κάλιο, $\text{C}_8\text{H}_6\text{K}_2\text{O}_4$.

4.4. Άνυδρίτης του όξικού όξέος $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$.

4.5. Ύπερχλωρικό όξύ, 0,1 mol/l έντός ψυχρού όξικού όξέος. Τό διάλυμα ετοιμάζεται καί βαθμολογείται ως ακόλουθως:

Ζυγίζονται P g διαλύματος υπερχλωρικού όξέος έντός βαθμολογημένης σφαιρικής φιάλης των 1 000 ml έφοδιασμένου με έσφυρισμένο γυάλινο πώμα.

Τά P g ύπολογίζονται βάσει του τύπου:

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

όπου:

m = ή συγκέντρωση του υπερχλωρικού όξέος επί τοις έκατό (m/m), πού προσδιορίζεται με όγκομέτρηση (70-72 % (m/m) είναι ή πιό κατάλληλη συγκέντρωση).

Προστίθενται 100 ml περίπου ψυχρού όξικού όξέος καί στή συνέχεια Q g σε μικρές διαδοχικές ποσότητες άνυδρίτου του όξικού όξέος. Τό μείγμα αναδεύεται καί ψύχεται συνεχώς κατά τή διάρκεια των διεργασιών προσθήκης.

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

όπου:

P = ή ζυγισμένη ποσότητα σε γραμμάρια του υπερχλωρικού όξέος,

a = ή επί τοις έκατό συγκέντρωση (m/m) του άνυδρίτου του όξικού όξέος.

Ή σφαιρική φιάλη σφραγίζεται καί αφήνεται επί 24 ώρες μακριά από τό φως. Προστίθεται κατόπιν άρκετό ψυχρό όξικό όξύ για να ληφθεί διάλυμα 1 000 ml. Τό διάλυμα

πού παρασκευάζεται με τόν τρόπο αυτό είναι σχεδόν άνυδρο. Τό διάλυμα ρυθμίζεται με φθαλικό κάλιο κατά τόν ακόλουθο τρόπο:

Ζυγίζονται περίπου 0,2 g φθαλικού καλίου, με προσέγγιση 0,1 mg, πού έχουν ύποστει κατάλληλη ξήρανση στους 110 °C επί δύο ώρες και διαλύονται έντός 25 ml ψυχρού όξι-
κού όξέος έντός κωνικής φιάλης, θερμαίνοντας σιγά σιγά. Τό διάλυμα ψύχεται. Προ-
στίθενται δύο σταγόνες του διαλύματος πού περιέχει 0,2 % (m/v) violet cristallisé (4.2)
έντός ψυχρού όξιου όξέος και όγκομετρείται με διάλυμα υπερχλωρικού όξέος μέχρις
ότου τό χρώμα του δείκτου μετατραπεί σε άνοιχτό πράσινο.

Διεξάγεται τυφλή όγκομέτρηση με τόν ίδιο όγκο και τό αριθμητικό αποτέλεσμα του
τυφλού προσδιορισμού αφαιρείται από έκείνο του άρχικου προσδιορισμού. 20,42 mg
φθαλικού καλίου άντιστοιχούν σε 1 ml υπερχλωρικού όξέος 0,1 mol/l.

5. Συσκευές

5.1. Άναλυτικός ζυγός.

6. Έκτέλεση του πειράματος

Ζυγίζονται περίπου 0,2 g δείγματος με προσέγγιση 0,5 mg και διαλύονται έντός 50 ml
ψυχρού όξέος (4.1). Προστίθενται μερικές σταγόνες του δείκτου violet cristallisé (4.2)
και τό διάλυμα όγκομετρείται με διάλυμα υπερχλωρικού όξέος 0,1 mol/l (4.5) μέχρις
ότου τό χρώμα του δείκτου αλλάξει προς άνοιχτό πράσινο.

7. Διατύπωση των αποτελεσμάτων

7.1. Τύπος και τρόπος ύπολογισμού

Ά επί τοίς έκάτο (m/m) περιεκτικότητα του δείγματος σε όξικό νάτριο, όπως όρίζεται
στό τμήμα 2 (όρισμός), ύπολογίζεται βάσει του κατωτέρω τύπου:

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

όπου:

m_0

V = ό όγκος του υπερχλωρικού όξέος (4.5) πού χρησιμοποιήθηκε για τήν όγκομέ-
τρηση,

c = ή μοριακότητα του υπερχλωρικού όξέος (4.5),

m_0 = ή άρχική μάζα του δείγματος σε γραμμάρια.

7.2. Έπαναληπτικότητα

Ά διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, πού πραγμα-
τοποιούνται συγχρόνως, υπό τίς ίδιες συνθήκες, από τό ίδιο άτομο και με τό ίδιο
δείγμα, δέν πρέπει να υπερβαίνει τά 1,5 g για 100 g δείγματος.

8. Παρατηρήσεις

Τά άντιδραστήρια πού χρησιμοποιούνται στη μέθοδο αυτή είναι τοξικά και έκρηκτικά.
Πρέπει λοιπόν να χρησιμοποιούνται με προσοχή.

ΜΕΘΟΔΟΣ 8

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΛΔΕΥΔΩΝ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΣΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (E 200), ΤΩΝ ΜΕΤΑ
ΝΑΤΡΙΟΥ, ΚΑΛΙΟΥ, Η ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΣΟΡΒΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ (E 201, E 202, E 203) ΚΑΙ ΤΟΥ
ΠΡΟΠΙΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (E 280)

1. Άντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Ά παρούσα μέθοδος επιτρέπει τήν άνίχνευση των αλδευδών, έκφρασμένων σε φορμαλ-
δεύδη, έντός:

- του σορβικού όξέος (E 200),
- των μετά νατρίου, καλίου ή άσβεστίου σορβικών άλάτων (E 201, E 202, E 203),
- του προπιονικού όξέος (E 280).

2. **Όρισμός**

Προσδιορισμός του όριου άνιχνεύσεως. Η συγκέντρωση των άλδεύδων, έκφρασμένη σε φορμαλδεύδη, λαμβάνεται με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω.
3. **Αρχή**

Άντιδραση των άλδεύδων του προς ανάλυση διαλύματος με το αντιδραστήριο Schiff και σύγκριση της έντάσεως της κόκκινης χροιάς διαλύματος φορμαλδεύδης, διάλυμα αναφοράς, που περιέχει το αντιδραστήριο Schiff.
4. **Αντιδραστήρια**
 - 4.1. Διάλυμα αναφοράς που περιέχει 0,01 mg φορμαλδεύδης ανά ml, που παρασκευάζεται δια διάλυσεως πυκνού διαλύματος φορμαλδεύδης (400 mg/ml).
 - 4.2. Άντιδραστήριο Schiff.
5. **Εκτέλεση του πειράματος**
 - 5.1. Ζυγίζεται 1 g δείγματος με προσέγγιση 1 mg. Προστίθενται 100 ml νερού. Το διάλυμα αναταράσσεται. Αν θεωρηθεί αναγκαίο το διάλυμα διηθείται και προτίθεται σε 1 ml του διηθήματος ή του διαλύματος 1 ml αντιδραστηρίου Schiff (4.2). Άλλοιθε, σε 1 ml του διαλύματος αναφοράς που περιέχει τη φορμαλδεύδη (4.1) προστίθεται 1 ml του αντιδραστηρίου Schiff (4.2)
 - 5.2. Η χροιά του διαλύματος που περιέχει το προς ανάλυση δείγμα συγκρίνεται με εκείνη του διαλύματος αναφοράς.
6. **Διατύπωση των αποτελεσμάτων**
 - 6.1. *Ερμηνεία της δοκιμασίας άνιχνεύσεως*

Αν η κόκκινη χροιά του δοκιμαστικού σωλήνα που περιέχει το προς ανάλυση δείγμα είναι πιο έντονη από εκείνη του δοκιμαστικού σωλήνα που περιέχει το διάλυμα αναφοράς, ή δοκιμασία είναι θετική και το δείγμα περιέχει πλέον του 0,1 % άλδεύδης έκφρασμένης σε φορμαλδεύδη.
 - 6.2. *Εύαισθησία*

Το όριο άνιχνεύσεως, που μπορεί να προσδιοριστεί με τη μέθοδο αυτή, είναι 30 mg φορμαλδεύδης για 100 g δείγματος.
 - 6.3. *Παρατήρηση*

Τα αποτελέσματα δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιήθηκαν συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, πρέπει να είναι ταυτόσημα.

ΜΕΘΟΔΟΣ 9

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΛΕΚΙΘΙΝΩΝ (E 322)

1. **Άντικείμενο και πεδίο εφαρμογής**

Η παρούσα μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό του δείκτου υπεροξειδίων των λεκιθινών (E 322).
2. **Όρισμός**

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται ο δείκτης υπεροξειδίων των λεκιθινών.

3. **Άρχή**

Όξειδωση του ιωδιούχου καλίου από τά υπεροξειδία των λεκιθινών και όγκομέτρηση του έλευθερούμενου ιωδίου με θειοθειικό νάτριο.
4. **Άντιδραστήρια**
 - 4.1. Ψυχρό όξικό όξύ.
 - 4.2. Χλωροφόρμιο.
 - 4.3. Ίωδιοχο κάλιο.
 - 4.4. Θειοθειικό νάτριο 0,1 mol/l ή 0,01 mol/l.
 - 4.5. Διάλυμα άμύλου (περίπου 1 % m/v).
5. **Συσκευές**
 - 5.1. Άναλυτικός ζυγός.
 - 5.2. Σύσκευή (βλέπε σχήμα) που αποτελείται από:
 - 5.2.1. σφαιρική φιάλη (μέ σφαιρικό πυθμένα), χωρητικότητας 100 ml
 - 5.2.2. κάθετο ψυκτήρα
 - 5.2.3. γυάλινο σωλήνα μήκους 250 mm και έσωτερικής διαμέτρου 22 mm, με έσφυρισμένα άκρα
 - 5.2.4. μικρό ποτήρι ζέσεως, έξωτερικών διαστάσεων: 35-50 mm ύψος και 20 mm διάμετρος.
6. **Έκτέλεση του πειράματος**
 - 6.1. Έντός σφαιρικής φιάλης 100 ml (5.2.1.) τοποθετούνται 10 ml ψυχρού όξικού όξέος (4.1) και 10 ml χλωροφορμίου (4.2). Τοποθετούνται ό γυάλινος σωλήνας (5.2.3) και ό κάθετος ψυκτήρας (5.2.2).

Τό μείγμα φέρεται βραδέως στό σημείο βρασμού, επί δύο λεπτά, για να άπαλλαγεί από τόν έν διαλύσει άέρα. 1 g ιωδιούχου καλίου (4.3) διαλύεται σέ 1,3 ml νερού και τό διάλυμα αυτό προστίθεται στή σφαιρική φιάλη (5.2.1) φροντίζοντας να μή διακοπεί ό βρασμός. Άν τή στιγμή αυτή έμφανιστεί μία κίτρινη χροιά μέσα στή σφαιρική φιάλη, τό πείραμα θεωρείται ότι απέτυχε και πρέπει να έπαναληφθει με προσφάτως παρασκευασθέντα αντίδραστήρια.
 - 6.2. Στή συνέχεια, μετά από δύο λεπτά βρασμού, προστίθεται στή σφαιρική φιάλη (5.2.1) 1 g του προς άνάλυση δείγματος, ζυγισμένο με προσέγγιση 1 mg, φροντίζοντας και πάλι να μή διακοπεί ό βρασμός. Για τό σκοπό αυτό τό δείγμα τίθεται σέ μικρό ποτήρι ζέσεως (5.2.4) που εισάγεται έντός τής σφαιρικής φιάλης από τό γυάλινο σωλήνα (5.2.3) με τή βοήθεια σύρματος του όποιου τό κάτω άκρο προσαρμόζεται στό έν λόγω ποτήρι ζέσεως (βλ. σχήμα). Ό ψυκτήρας μπορεί να άπομακρυνθει όσο διαρκεί ή ταχεία αυτή δοκιμασία. Ό βρασμός διατηρείται επί τρία - τέσσερα ακόμα λεπτά. Στή συνέχεια παύει ή θέρμανση, άπομακρύνεται άμέσως ό ψυκτήρας (5.2.2) και προστίθενται ταχέως 50 ml νερού από τό γυάλινο σωλήνα (5.2.3). Άφαιρείται ό γυάλινος σωλήνας (5.2.3) και ψύχεται ή σφαιρική φιάλη (5.2.1) κάτω από τρεχούμενο νερό μέχρις ότου φτάσει στή θερμοκρασία δωματίου. Όγκομετρείται με θειοθειικό νάτριο (0,1 mol/l ή 0,01 mol/l) (4.4) μέχρις ότου άποχρωματιστεί τό υδάτινο στρώμα. Άκριβώς πριν από τό τέλος τής όγκομετρήσεως προστίθεται 1 ml διαλύματος άμύλου (4.5) και ή όγκομέτρηση συνεχίζεται μέχρις ότου εξαφανιστεί ή μπλέ χροιά. Κατά τή διάρκεια τής όγκομετρήσεως, ή σφαιρική φιάλη (5.2.1) άναταράζεται καλά ώστε να εξέλθει πλήρως τό ιώδιο από τό μη υδάτινο στρώμα.

6.3. Νά εκτελεσθεί τυφλή όγκομέτρηση σύμφωνα με τό 6.1 και 6.2.

7. **Διατύπωση τών αποτελεσμάτων**

7.1. *Τύπος και τρόπος ύπολογισμού*

Ό δείκτης ύπεροξειδίων του δείγματος, σε χιλιοστοϊσοδύναμα ανά χιλιόγραμμα ύπολογίζεται βάσει του τύπου:

$$\frac{1\ 000 \times a \times (V_1 - V_2)}{m_0}$$

όπου:

V_1 = ό όγκος, σε ml, του διαλύματος του θειοθειικού άλατος που χρησιμοποιήθηκε για την όγκομέτρηση του δείγματος σύμφωνα με τό (6.2),

V_2 = ό όγκος, σε ml, του διαλύματος του θειοθειικού άλατος που χρησιμοποιήθηκε για τον τυφλό προσδιορισμό σύμφωνα με τό (6.3),

a = ή συγκέντρωση του διαλύματος του θειοθειικού νατρίου σε mol/l,

m_0 = ή άρχική μάζα του δείγματος σε γραμμάρια.

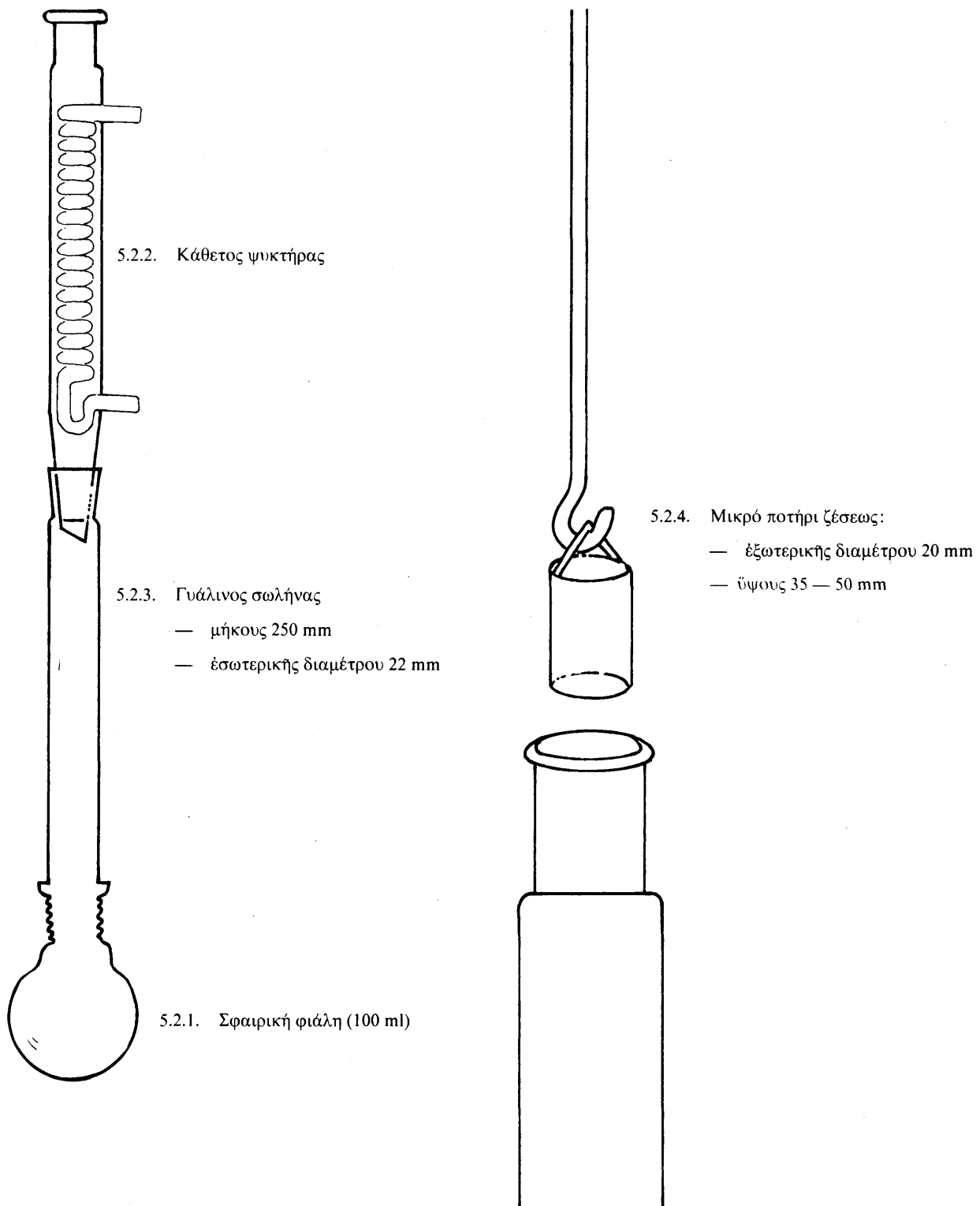
7.2. *Έπαναληπτικότητα*

Ό διαφορά μεταξύ τών αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τίς ίδιες συνθήκες, από τό ίδιο άτομο και με τό ίδιο δείγμα, δέν πρέπει νά ύπερβαίνει τά 0,5 χιλιοστοϊσοδύναμα ανά χιλιόγραμμα του δείγματος.

8. **Παρατηρήσεις**

8.1. Ό έκλογή της συγκεντρώσεως του χρησιμοποιούμενου θειοθειικού νατρίου εξαρτάται από τό άποσκοπούμενο άποτέλεσμα. Αν χρησιμοποιηθούν λιγότερα από 0,5 ml διαλύματος θειοθειικού νατρίου 0,1 mol/l, ό προσδιορισμός επαναλαμβάνεται χρησιμοποιώντας διάλυμα θειοθειικού άλατος 0,01 mol/l.

8.2. Ό ανάλυση εκτελείται μακριά από τό έντονο φώς.



Συσκευή για τον προσδιορισμό του δείκτη υπεροξειδίων των λεκιθινών

ΜΕΘΟΔΟΣ 10**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΟΣ ΤΩΝ ΛΕΚΙΘΙΝΩΝ (E 322) ΣΕ ΑΔΙΑΛΥΤΕΣ ΣΤΟ ΤΟΛΟΥΟΛΙΟ ΟΥΣΙΕΣ**

1. **Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής**

Η παρούσα μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό των αδιάλυτων στο τολουόλιο ουσιών εντός των λεκιθινών (E 322).
2. **Όρισμός**

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε ουσίες αδιάλυτες στο τολουόλιο.
3. **Αρχή**

Διήθηση των αδιάλυτων στο τολουόλιο προσμίξεων και ξήρανση του υπολείμματος.
4. **Αντιδραστήρια**
 - 4.1. Τολουόλιο.
5. **Συσκευές**
 - 5.1. Ήθμος από φρυγμένο γυαλί G 3 των 30 ml ή ισοδύναμου μεγέθους πόρων.
 - 5.2. Θερμοηλεκτρικός κλίβανος, ρυθμισμένος στους 103 ± 2 °C.
 - 5.3. Ύδρoλoutρο του οποίου η θερμοκρασία δέν υπερβαίνει τους 60 °C.
 - 5.4. Ξηραντήρας με Silica gel (SiO₂) σε άνυδρη κατάσταση ή με άλλο αντίστοιχο υγροσκοπικό μέσο και εφοδιασμένος με δείκτη υγρασίας.
 - 5.5. Κωνική φιάλη των 500 ml.
 - 5.6. Αντλία κενού.
 - 5.7. Αναλυτικός ζυγός.
6. **Εκτέλεση του πειράματος**
 - 6.1. Ο ήθμος από φρυγμένο γυαλί, των 30 ml (5.1), ύψισταται ξήρανση εντός κλιβάνου ρυθμισμένου στους 103 ± 2 °C (5.2). Ο ήθμος αφήνεται να ψυχθεί σε ξηραντήρα (5.4) και ζυγίζεται.
 - 6.2. Αναδεύεται το δείγμα της λεκιθίνης μετά από θέρμανση σε υδρόλουτρο (5.3), εφ' όσον αυτό έχει θεωρηθεί αναγκαίο. Εντός κωνικής φιάλης (5.5) ζυγίζονται, με προσέγγιση 1 mg, περίπου 10 g του δείγματος. Προστίθενται 100 ml τολουολίου (4.1) και το μείγμα αναδεύεται μέχρις ότου διαλυθεί όλη η λεκιθίνη. Το διάλυμα διηθείται μέσω του ήθμου από φρυγμένο γυαλί (5.1), με 25 ml τολουολίου (4.1) εκπλύνεται η κωνική φιάλη (5.5). Τά διαλύματα εκπλύσεως διηθούνται μέσω του ήθμου (5.1). Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται με νέα ποσότητα 25 ml τολουολίου (4.1). Ο ήθμος αφαιρείται και το τολουόλιο απορροφάται υπό κενό.

- 6.3. Ο ήθμος (5.1) με το υπόλειμμα υφίστανται ξήρανση στους 103 ± 2 °C επί 2 ώρες στον κλίβανο (5.2). Ο ήθμος αφήνεται να ψυχθεί στον ξηραντήρα (5.4) και στη συνέχεια ζυγίζεται.
- 6.4. Το 6.3 επαναλαμβάνεται μέχρις ότου η διαφορά μεταξύ δύο διαδοχικών ζυγίσεων δεν υπερβαίνει τα 0,5 mg.
Υποθέτοντας μία πιθανή αύξηση της μάζας, για τον υπολογισμό θα ληφθεί υπόψη ο μικρότερος αριθμός που θα καταγραφεί.

7. Διατύπωση των αποτελεσμάτων

7.1. Τύπος και τρόπος υπολογισμού

Η περιεκτικότητα σε αδιάλυτες στο τολουόλιο ουσίες υπολογίζεται βάσει του τύπου:

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

όπου:

- m_1 = ή μάζα του κενού ήθμου (6.1) εκφρασμένη σε γραμμάρια,
 m_2 = ή μάζα του ήθμου μαζί με το υπόλειμμα (6.4) εκφρασμένη σε γραμμάρια,
 m_0 = ή αρχική μάζα του δείγματος εκφρασμένη σε γραμμάρια.

7.2. Έπαναληπτικότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 30 mg για 100 g δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ 11

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΓΩΓΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΕΝΤΟΣ ΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΝΑΤΡΙΟΥ, ΚΑΛΙΟΥ ΚΑΙ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ (E 325, E 326, E 327)

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος επιτρέπει τον ποιοτικό προσδιορισμό των αναγωγικών ουσιών:

- του γαλακτικού νατρίου (E 325),
- του γαλακτικού καλίου (E 326) και
- του γαλακτικού ασβεστίου (E 327).

2. Όρισμός

Κατά το πείραμα προσδιορισμού του όριου ανιχνεύσεως με αναγωγή του αντιδραστηρίου Fehling, το δείγμα αντιδρά με το αντιδραστήριο Fehling υπό τις συνθήκες που περιγράφονται κατωτέρω.

3. Αρχή

Αναγωγή του αντιδραστηρίου Fehling από αναγωγικές ουσίες. Παρόμοιες ουσίες αποτελούνται γενικά από αναγωγικά σάκχαρα.

4. Αντιδραστήρια

- 4.1. Αντιδραστήριο Fehling A (διαλύονται 6,93 g ένυδρου θειικού χαλκού ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) εντός νερού και προστίθεται νερό μέχρι τα 100 ml).
- 4.2. Αντιδραστήριο Fehling B (διαλύονται 34,6 g μετά νατρίου και καλίου ένυδρου τρυγικού άλας ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) και 10 g καυστικού νατρίου εντός νερού και προστίθεται νερό μέχρι τα 100 ml).

5. Έκτέλεση του πειράματος

Διαλύεται 1 g δείγματος, ζυγισμένου με προσέγγιση 1 mg, εντός 10 ml ζεστού νερού. Προστίθενται 2 ml αντιδραστήριου Fehling A (4.1) και 2 ml αντιδραστήριου Fehling B (4.2). Παρατηρείται αν επέρχεται αλλαγή της χροιάς μετά από ζέση του μείγματος επί ένα λεπτό. Η καθίζηση θειικού ασβεστίου που συμβαίνει μερικές φορές δεν επηρεάζει τη μέθοδο.

6. Διατύπωση των αποτελεσμάτων**6.1. Έρμηνεία της δοκιμασίας ανίχνευσης**

Αν παρατηρηθεί αλλαγή του χρώματος μετά τη ζέση (5), η δοκιμασία είναι θετική και επομένως υπάρχουν αναγωγικές ουσίες.

6.2. Εύαισθησία

Τό όριο ανίχνευσης των αναγωγικών ουσιών είναι 100 mg γλυκόζης σε 100 g δείγματος.

6.3. Παρατηρήσεις

6.3.1. Τα αποτελέσματα δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιήθηκαν συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, πρέπει να είναι ταυτόσημα.

6.3.2. Αν το δείγμα περιέχει 2 % γλυκόζη, τότε αντιδρά όλο το αντιδραστήριο Fehling.

ΜΕΘΟΔΟΣ 12**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΟΡΘΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (E 338)****1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής**

Η μέθοδος επιτρέπει την ανίχνευση των πτητικών οξέων εντός του όρθοφωσφορικού οξέος (E 338), εκφρασμένων σε όξινο όξύ.

2. Όρισμός

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε πτητικά οξέα, εκφρασμένων σε όξινο όξύ.

3. Αρχή

Διάλυση του δείγματος και απόσταξη του διαλύματος. Όγκομέτρηση του αποστάγματος με διάλυμα καυστικού νατρίου και υπολογισμός της οξύτητος εκφρασμένης σε όξινο όξύ.

4. Αντιδραστήρια

4.1. Διάλυμα 1 % (m/v) φαινολοφθαλεΐνης σε αιθανόλη.

4.2. Καυστικό νάτριο, 0,01 mol/l.

5. Συσκευές

5.1. Σφαιρική φιάλη αποστάξεως με άτμοπαγίδα.

6. Έκτέλεση του πειράματος

Ζυγίζονται 60 g δείγματος με προσέγγιση 50 mg και τοποθετούνται εντός σφαιρικής φιάλης απόστάξεως με άτμοπαγίδα (5.1) όπου προστίθενται 75 ml νερού που έχει προσφάτως ύποστει ζέση και στη συνέχεια έχει ψυχθεί, αναδεύεται το διάλυμα και αποστάζονται 50 ml από αυτό. Στο απόσταγμα προστίθενται μερικές σταγόνες διαλύματος φαινολοφθαλεΐνης (4.1) και γίνεται όγκομέτρηση με διάλυμα καυστικού νατρίου 0,01 mol/l (4.2) μέχρις ότου η πρώτη κόκκινη χροιά διατηρηθεί επί 10 δευτερόλεπτα.

7. Διατύπωση των αποτελεσμάτων

7.1. Τύπος και τρόπος ύπολογισμού

Η περιεκτικότητα σε πτητικά όξέα, εκφρασμένη σε mg/kg όξέος ύπολογίζεται βάσει του τύπου:

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

όπου:

V = ό όγκος σε ml του διαλύματος καυστικού νατρίου 0,01 mol/l που χρησιμοποιήθηκε για την έξουδετέρωση,

m₀ = ή μάζα σε γραμμάρια του δείγματος του όρθοφωσφορικού όξέος.

7.2. Έπαναληπτικότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από τό ίδιο άτομο και με τό ίδιο δείγμα, δέν πρέπει νά υπερβαίνει τό 1 mg για 100 g δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ 13

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΝΙΤΡΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΟΡΘΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
(E 338)

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η παρούσα μέθοδος έπιτρέπει την ανίχνευση των νιτρικών αλάτων εντός του όρθοφωσφορικού όξέος (E 338).

2. Όρισμός

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται τό όριο ανίχνεύσεως των νιτρικών αλάτων εκφρασμένων σε νιτρικά άλατα νατρίου.

3. Αρχή

Σέ όξινο περιβάλλον, που έπιτυγχάνεται με πυκνό διάλυμα θεικού όξέος, προστίθεται στό δείγμα ίνδικοκαρμίνιο. Αποχρωματισμός με όξειδωση, όφειλόμενη σε όξειδούμενες ούσιες και συγκεκριμένα στά νιτρικά άλατα.

4. Αντιδραστήρια

4.1 Διάλυμα ίνδικοκαρμινίου περιεκτικότητος 0,18 % (m/v): διαλύονται 0,18 g ίνδικοϋ-διθεικού νατρίου εντός 100 ml νερού.

4.2 Διάλυμα 0,05 % (m/v) χλωριούχου νατρίου.

4.3 Πυκνό θεικό όξύ (ρ₂₀ = 1,84g/ml).

5. Έκτέλεση του πειράματος

2 ml του πρὸς ἀνάλυση δείγματος διαλύονται ἐντὸς διαλύματος χλωριούχου νατρίου (4.2) μέχρι ὄγκου 10 ml. Προστίθενται 0,1 ml διαλύματος ἰνδικοκαρμινίου (4.1) καὶ 10 ml πυκνοῦ θεικοῦ ὀξέος (4.3) στάγδην καὶ με σύγχρονη ψύξη. Νά σημειωθεῖ ἂν ἡ μπλέ χροιά τοῦ διαλύματος διατηρεῖται ἐπὶ 5 λεπτά.

6. Διατύπωση τῶν ἀποτελεσμάτων

6.1. Ἑρμηνεία τῆς δοκιμασίας ἀνιχνεύσεως

Ἄν ἡ μπλέ χροιά ἐξαφανισθεῖ ἐντελῶς ἐντὸς 5 λεπτῶν, τὸ πείραμα εἶναι θετικό καὶ ἡ περιεκτικότητα σέ ὀξειδούμενες οὐσίες, ἐκφρασμένες σέ νιτρικά ἅλατα νατρίου, ὑπερβαίνει τὰ 5 mg/kg δείγματος.

6.2. Παρατηρήσεις

6.2.1. Νά πραγματοποιηθεῖ μία τυφλή δοκιμασία τῶν ἀντιδραστηρίων.

6.2.2. Τὰ ἀποτελέσματα τῶν δύο παράλληλων προσδιορισμῶν πού πραγματοποιοῦνται συγχρόνως, ὑπὸ τίς ἴδιες συνθήκες, ἀπὸ τὸ ἴδιο ἄτομο, ἐπὶ τοῦ ἴδιου δείγματος, πρέπει νά εἶναι ταυτόσημα.

6.2.3. Τὸ διάλυμα τοῦ ἰνδικοκαρμινίου δέν πρέπει νά ἐτοιμαστῆ πρὶν ἀπὸ 60 ἡμέρες.

6.2.4. Τὸ θετικό ἀποτέλεσμα σημαίνει ὅτι τὸ δείγμα μπορεῖ νά περιέχει νιτρικά ἅλατα καὶ ἄλλες ὀξειδούμενες οὐσίες. Τὸ πείραμα πρέπει νά ἐπαναληφθεῖ χρησιμοποιώντας τὴ μέθοδο ISO 3709 (1976) «φωσφορικό ὄξύ γιὰ βιομηχανική χρήση (περιλαμβανομένης καὶ τῆς βιομηχανίας τροφίμων) — ποσοτική ἀνάλυση τοῦ ὀξειδίου τοῦ ἀζώτου — φασματομετρική μέθοδος με ζυλενόλη 3,4».

ΜΕΘΟΔΟΣ 14

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΟ ΝΕΡΟ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΕΝΤΟΣ ΤΩΝ ΟΡΘΟΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ: ΔΙΣΟΞΙΝΟ ΦΩΣΦΟΡΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ, ΜΟΝΟΞΙΝΟ ΦΩΣΦΟΡΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ, ΦΩΣΦΟΡΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ, ΔΙΣΟΞΙΝΟ ΦΩΣΦΟΡΙΚΟ ΚΑΛΙΟ, ΜΟΝΟΞΙΝΟ ΦΩΣΦΟΡΙΚΟ ΚΑΛΙΟ ΚΑΙ ΦΩΣΦΟΡΙΚΟ ΚΑΛΙΟ (E 339 i, E 399 ii, E 399 iii, E 340 i, E 340 ii, E 340 iii)

1. Ἀντικείμενο καὶ πεδίο ἐφαρμογῆς

Ἡ μέθοδος ἐπιτρέπει τὸν προσδιορισμὸ τῶν ἀδιάλυτων στό νερό οὐσιῶν πού ὑπάρχουν στό:

- δισόξινο φωσφορικό νάτριο (E 399 i),
- μονόξινο φωσφορικό νάτριο (E 399 ii),
- φωσφορικό νάτριο (E 399 iii),
- δισόξινο φωσφορικό κάλιο (E 340 i),
- μονόξινο φωσφορικό κάλιο (E 340 ii),
- φωσφορικό κάλιο (E 340 iii).

2. Ὅρισμός

Με τὴ μέθοδο περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται ἡ περιεκτικότητα σέ ἀδιάλυτες στό νερό οὐσίες.

3. Ἀρχή

Διάλυση τοῦ δείγματος στό νερό καὶ διήθηση τῶν ἀδιάλυτων οὐσιῶν. Ξήρανση τοῦ ὑπολείμματος πού ἐκφράζεται σέ ἀδιάλυτες στό νερό οὐσίες.

4. **Συσκευές**

- 4.1. Ήθμος έκ πορώδους πορσελάνης G 3 ή ισοδύναμου μεγέθους πόρων.
- 4.2. Ξηραντήρας με Silica gel (SiO₂), σε άνυδρη κατάσταση ή με άλλο αντίστοιχο υγροσκοπικό μέσο και εφοδιασμένος με δείκτη υγρασίας.
- 4.3. Ηλεκτρικός κλίβανος, ρυθμισμένος στους 103 ± 2 °C.
- 4.4. Ποτήρι των 400 ml από πολυπροπυλένιο.
- 4.5. Ζέον υδρόλουτρο.

5. **Έκτέλεση του πειράματος**

Διαλύονται 10 g δείγματος φωσφορικού άλατος, ζυγισμένα με προσέγγιση 10 mg, εντός 100 ml ζεστού νερού σε ποτήρι από πολυπροπυλένιο (4.4) και διατηρείται εντός του ζεόντος υδρόλουτρου (4.5) επί 15 λεπτά. Το διάλυμα διηθείται μέσω του ήθμου (4.1) που έχει προηγουμένως υποστεί έκπλυση, ξήρανση και ζύγιση. Το αδιάλυτο υπόλειμμα υφίσταται έκλυση με ζεστό νερό και ξηραίνεται εντός του κλιβάνου (4.3) στους 103 ± 2 °C. Μετά από πλήρη ξήρανση, που διαρκεί δύο ώρες, αφήνεται να ψυχθεί εντός του ξηραντήρα και ζυγίζεται. Η ξήρανση θεωρείται πλήρης όταν η διαφορά μεταξύ δύο διαδοχικών ζυγίσεων δεν υπερβαίνει τα 0,5 mg. Υποθέτοντας μία πιθανή αύξηση της μάζας, για τον υπολογισμό θα ληφθεί υπόψη ο μικρότερος αριθμός που θα καταγραφεί.

6. **Διατύπωση των αποτελεσμάτων**6.1. *Τύπος και τρόπος υπολογισμού*

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε αδιάλυτες στο νερό ουσίες υπολογίζεται βάσει του κατωτέρω τύπου:

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

όπου:

m_1 = ή μάζα σε γραμμάρια του δείγματος μετά την ξήρανση.

m_0 = ή μάζα σε γραμμάρια του δείγματος.

6.2. *Επαναληψιμότητα*

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 10 mg για 100 g δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ 15**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ pH ΤΩΝ ΠΡΟΣΘΕΤΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ΥΛΩΝ**1. **Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής**

Η μέθοδος αναφέρει σε γενικές γραμμές τον προσδιορισμό του pH των προσθέτων στα τρόφιμα υλών.

2. Όρισμός

Με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω προσδιορίζεται το pH της προσθέτου ύλης.

3. Αρχή

Το pH ύδατικού διαλύματος ή ύδατικής αραίωσης προσδιορίζεται συμβατικά με ένα γυάλινο ηλεκτρόδιο, ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς και ένα πεχάμετρο.

4. Αντιδραστήρια

4.1.1. Ρυθμιστικό διάλυμα, με pH 6,88 στους 20 °C, αποτελούμενο από ίσους όγκους δισόξινου φωσφορικού καλίου (KH_2PO_4) 0,055 mol/l και ένυδρου μονόξινου φωσφορικού νατρίου ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,05 mol/l.

4.1.2. Ρυθμιστικό διάλυμα, με pH 4 στους 20 °C, αποτελούμενο από φθαλικό κάλιο ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$), 0,05 mol/l.

4.1.3. Ρυθμιστικό διάλυμα με pH 9,22 στους 20 °C, αποτελούμενο από βορικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) mol/l.

4.2. Διάλυμα χλωριούχου καλίου (KCl) 3 mol/l ή κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου καλίου για την πλήρωση των ηλεκτροδίων αναφοράς ή κάθε άλλο κατάλληλο διάλυμα που υποδεικνύει ο κατασκευαστής των ηλεκτροδίων.

4.3. Αποσταγμένο νερό, απαλλαγμένο διοξειδίου του άνθρακος, με pH 5 και 6.

5. Συσκευές

5.1. Πεχάμετρο με ακρίβεια 0,01 μονάδων pH.

5.2. Ήλεκτρόδιο, είτε σειρά γυάλινων ήλεκτροδίων συνδεδεμένων μεταξύ τους, είτε μονοδικό γυάλινο ήλεκτρόδιο και ήλεκτρόδιο αναφοράς με κατάλληλες λαβίδες.

5.3. Μαγνητικός αναδευτήρας εφοδιασμένος με διάταξη θερμάνσεως.

5.4. Θερμόμετρο, βαθμολογημένο από 0° μέχρι 100 °C.

6. Εκτέλεση του πειράματος**6.1. Ρύθμιση του πεχάμετρου**

Τά γυάλινα ήλεκτρόδια συναρμολογούνται σύμφωνα με τις υποδείξεις του κατασκευαστού. Η ρύθμιση των γυάλινων ήλεκτροδίων ελέγχεται τακτικά επί της κλίμακος του πεχάμετρου μέσω ρυθμιστικών διαλυμάτων των οποίων το ακριβές pH είναι γνωστό.

Τά ήλεκτρόδια έκπλύνονται με νερό και σκουπίζονται προσεκτικά με μαλακό ύφασμα ή, ακόμα καλύτερα, έκπλύνονται με νερό και στη συνέχεια έκπλύνονται επί δύο συνεχόμενες φορές με τό προς μέτρηση διάλυμα ή τό ρυθμιστικό διάλυμα και τοποθετούνται εντός του προς μέτρηση διαλύματος ή του ρυθμιστικού διαλύματος.

Αν τό προς μέτρηση διάλυμα έχει όξινο pH, χρησιμοποιούνται για τόν έλεγχο του pH τά ρυθμιστικά διαλύματα με pH 4 (4.1.2) και με pH 6,88 (4.1.1).

Αν τό προς μέτρηση διάλυμα έχει βασικό pH, χρησιμοποιούνται για τόν έλεγχο του pH τά ρυθμιστικά διαλύματα με pH 9,22 (4.1.3) και με 6,88 (4.1.1).

6.2. Προσδιορισμός του προς μέτρηση διαλύματος

Η συγκέντρωση του προς μέτρηση διαλύματος ή η παρασκευή του διαλύματος που θα ληφθεί υπόψη πρέπει να είναι σύμφωνες με την κοινοτική οδηγία που αφορά τις πρόσθετες στά τρόφιμα ύλες.

Το προς μέτρηση διάλυμα παρασκευάζεται με το αποσταγμένο νερό (4.3) στους 20 °C με συνεχή ανάδευση. Παύει η ανάδευση και τα γυάλινα ηλεκτρόδια (5.2) τοποθετούνται εντός του διαλύματος. Μετά από δύο λεπτά το pH αναγιγνώσκεται επί του πεχαμέτρου (5.1)

7. Διατύπωση των αποτελεσμάτων**7.1. Έπαναληπτικότητα**

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που πραγματοποιούνται συγχρόνως, υπό τις ίδιες συνθήκες, από το ίδιο άτομο και με το ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 0,05 μονάδες pH.

8. Παρατηρήσεις

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται μόνο για τα κριτήρια του pH που ελήφθησαν υπόψη στις κοινοτικές οδηγίες των προσθέτων στά τρόφιμα ύλων όπου οι πρόσθετες ύλες διαλύονται με νερό ή αποτελούν υδατικά διαλύματα.

ΑΠΟΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 28ης Ιουλίου 1981

περί του πίνακος των έγκριμένων εγκαταστάσεων της Δημοκρατίας της Βραζιλίας για την εισαγωγή στην Κοινότητα νωπού βοείου κρέατος καθώς και κρέατος τών κατοικιδίων μονύχων

(81/713/ΕΟΚ)

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τή συνθήκη περί ιδρύσεως της Ευρωπαϊκής Οικονομικής Κοινότητας,

τήν οδηγία 72/462/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 12ης Δεκεμβρίου 1972 περί τών υγειονομικών προβλημάτων και του υγειονομικού κτηνιατρικού έλέγχου κατά την εισαγωγή τών βοοειδών και χοιρειοειδών ζώων και τών νωπών κρεάτων προελεύσεως τρίτων χωρών ⁽¹⁾, και τό άρθρο 4 παράγραφος 1 και τό άρθρο 18 παράγραφος 1 υπό α και β.

Έκτιμώντας:

ότι, για να μπορούν να έχουν άδεια να εξαγουν τά νωπά κρέατα στην Κοινότητα, οι εγκαταστάσεις πού εύρίσκονται στις τρίτες χώρες πρέπει να ανταποκρίνονται στους γενικούς και ειδικούς όρους πού καθορίζονται από την οδηγία 72/462/ΕΟΚ·

ότι ή Βραζιλία διαβίβασε, σύμφωνα με τό άρθρο 4 παράγραφος 3 της οδηγίας 72/462/ΕΟΚ, κατάλογο τών έγκριμένων εγκαταστάσεων για εξαγωγές στην Κοινότητα·

ότι ένας μεγάλος αριθμός εκ τών εγκαταστάσεων αυτών, πού αποτέλεσαν αντικείμενο κοινοτικής επιθεωρήσεως επί τόπου, προσφέρουν έπαρκείς έγγυήσεις στό επίπεδο της υγιεινής και ότι μπορούν, κατόπιν τούτου, να γίνουν δεκτές σέ έναν πρώτο κατάλογο, πού καταρτίζεται σύμφωνα με τό άρθρο 4 παράγραφος 1 της οδηγίας 72/462/ΕΟΚ, τών εγκαταστάσεων από τις όποιες μπορεί να επιτραπεί ή εισαγωγή τών νωπών κρεάτων·

ότι ή περίπτωση τών άλλων εγκαταστάσεων πού προτείνονται από τή Βραζιλία πρέπει ακόμη να επανεξετασθεί βάσει τών συμπληρωματικών πληροφοριών πού είναι σχετικές με τό επίπεδο υγιεινής τους και με τις δυνατότητες ταχείας προσαρμογής τους στην κοινοτική ρύθμιση·

ότι, εν τώ μεταξύ και για να μή διακοπούν απότομα τά ρεύματα συναλλαγών, οι εγκαταστάσεις αυτές μπορούν να γίνουν δεκτές προσωρινά και να έχουν τή δυνατότητα να συνεχίσουν τις εξαγωγές

τους τών νωπών κρεάτων στά Κράτη μέλη πού διατίθενται να τά δεχθούν·

ότι συντρέχει λόγος, κατά συνέπεια, να επανεξετασθεί ή παρούσα απόφαση και κατ' ανάγκη να τροποποιηθεί, σέ συνάρτηση με τις πρωτοβουλίες πού ελήφθησαν για τό σκοπό αυτό και τις πραγματοποιηθείσες βελτιώσεις·

ότι πρέπει να σημειωθεί εκ νέου ότι οι εισαγωγές τών νωπών κρεάτων υπόκεινται επίσης σέ άλλες κοινοτικές κτηνιατρικές ρυθμίσεις ιδίως στον τομέα του υγειονομικού έλέγχου, συμπεριλαμβανομένων και τών ειδικών διατάξεων προς όφελος της Δανίας, της Ίρλανδίας και του Ένωμένου Βασιλείου·

ότι οι όροι εισαγωγής τών νωπών κρεάτων πού προέρχονται από τις εγκαταστάσεις πού εμφαίνονται στον προσαρτημένο κατάλογο της παρούσας αποφάσεως εξακολουθούν να υπόκεινται στις θεσπισθείσες έξάλλου κοινοτικές διατάξεις καθώς και στην τήρηση τών γενικών διατάξεων της συνθήκης· ότι, ιδιαίτερα, ή εισαγωγή με προέλευση από τρίτες χώρες και ή κυκλοφορία προς άλλα Κράτη μέλη όρισμένων κατηγοριών κρεάτων, όπως τά κρέατα λιγότερο από 3 χγρ ή τά κρέατα πού περιέχουν υπολείμματα όρισμένων ουσιών πού πρέπει ακόμη να αποτελούν αντικείμενο ειδικής έναρμονισμένης νομοθεσίας, εξακολουθούν να υπόκεινται στην υγειονομική νομοθεσία τή σχετική με την εισαγωγή στό Κράτος μέλος προορισμού·

ότι τά μέτρα πού προβλέπονται στην παρούσα απόφαση είναι σύμφωνα με τή γνώμη της Μόνιμης Κτηνιατρικής Έπιτροπής,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΑΠΟΦΑΣΗ:

Άρθρο 1

1. Έγκρίνονται, για την εισαγωγή στην Κοινότητα του νωπού βοείου και προβείου κρέατος και τών κατοικιδίων μονύχων, οι εγκαταστάσεις της Δημοκρατίας της Βραζιλίας πού εμφαίνονται στό παράρτημα.

2. Οι εισαγωγές πού προέρχονται από τις εγκαταστάσεις αυτές εξακολουθούν να υπόκεινται στις κοινοτικές διατάξεις πού θεσπίσθηκαν άλλου, στον κτηνιατρικό τομέα, ειδικά στό θέμα του υγειονομικού έλέγχου.

(1) ΕΕ αριθ. L 302 της 31. 12. 1972, σ. 28.

Άρθρο 2

1. Τά Κράτη μέλη απαγορεύουν την εισαγωγή των κατηγοριών νωπών κρεάτων που αναφέρονται στο άρθρο 1 παράγραφος 1 και προέρχονται από εγκαταστάσεις άλλες από αυτές που αποτελούν αντικείμενο του παραρτήματος.

2. Η απαγόρευση αυτή δεν εφαρμόζεται εν τούτοις μέχρι την 1η Μαΐου 1982 για τις εγκαταστάσεις που δεν εμφανίζονται μόν στο παράρτημα αλλά αναγνωρίζονται και προτείνονται επίσημως από τις αρχές της Βραζιλίας την 1η Ιουλίου 1981 κατ' εφαρμογή του άρθρου 4 παράγραφος 3 της οδηγίας 72/462/ΕΟΚ, εκτός αντιθέτου αποφάσεως λαμβανομένης έναντί τους, σύμφωνα με τό άρθρο 4 παράγραφος 1 της προαναφερομένης οδηγίας, πριν από την 1η Μαΐου 1982.

Ο κατάλογος των εγκαταστάσεων αυτών ανακοινώνεται από την Έπιτροπή στά Κράτη μέλη.

Άρθρο 3

Η παρούσα απόφαση αρχίζει νά ισχύει την 1η Οκτωβρίου 1981.

Άρθρο 4

Η παρούσα απόφαση επανεξετάζεται και πιθανώς τροποποιείται πριν από την 1η Μαΐου 1982.

Άρθρο 5

Η παρούσα απόφαση απευθύνεται στά Κράτη μέλη.

Έγινε στις Βρυξέλλες, στις 28 Ιουλίου 1981.

Γιά την Έπιτροπή

Ό Πρόεδρος

Gaston THORN

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΤΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ

I. ΒΟΕΙΟ ΚΡΕΑΣ

Α. Σφαγεία και εργαστήρια κοπής

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
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 Uniao SA, Presidente Epitacio, 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, 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

Β. Σφαγεία

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
0076	SA Frigorífico Anglo — Barretos, São Paulo

Γ. Έργαστήρια κοπής

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
0001	Cia de Alimentos do Brasil (COMABRA), Osasco, São Paulo

II. ΚΡΕΑΣ ΙΠΠΩΝ

Σφαγεία και εργαστήρια κοπής

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
0003	Frigorífico Yukijirushi do Paraná SA, Curitiba — Paraná
0924	Matadouro e Frigorífico Industrial SA, MAFISA, Belo Jardim — Rernambuco

III. ΨΥΚΤΙΚΟΙ ΧΩΡΟΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΕΩΣ

Άριθ. εγκατάστασης	Διεύθυνση
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

ΑΠΟΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 28ης Ιουλίου 1981

περί τροποποιήσεως των πινάκων των έγκριμένων εγκαταστάσεων της Δημοκρατίας της Αργεντινής και της Δημοκρατίας της Ούρουγουάης για την εισαγωγή στην Κοινότητα νεπού βοείου και προβείου κρέατος καθώς και κρέατος των κατοικιδίων μονύχων

(81/714/ΕΟΚ)

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τή συνθήκη περί ιδρύσεως της Ευρωπαϊκής Οικονομικής Κοινότητας,

τήν οδηγία 72/462/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 12ης Δεκεμβρίου 1972 περί των υγειονομικών προβλημάτων και του υγειονομικού κτηνιατρικού έλέγχου κατά την εισαγωγή βοοειδών και χοιροειδών ζώων και των νωπών κρεάτων προελεύσεως τρίτων χωρών (1), και ιδίως τό άρθρο 4 παράγραφος 1 και τό άρθρο 18 παράγραφος 1 υπό α και β,

Έκτιμώντας:

ότι οι πίνακες των έγκριμένων εγκαταστάσεων της Αργεντινής και Ούρουγουάης για την εισαγωγή στην Κοινότητα νεπού βοείου και προβείου κρέατος καθώς και των κατοικιδίων μονόπλων έχουν καθορισθεί στις αρχικές αποφάσεις της Έπιτροπής της 25ης Νοεμβρίου 1980, όπως οι πίνακες αυτοί έχουν τροποποιηθεί από την απόφαση 81/91/ΕΟΚ (2) και την απόφαση 81/92/ΕΟΚ (3) και τελευταία από την απόφαση της 15ης Ιουλίου 1981.

ότι οι νέες επιτόπιες επιθεωρήσεις απέδειξαν ότι τό επίπεδο υγιεινής άλλων εγκαταστάσεων, πού έχουν προταθεί από την Αργεντινή και την Ούρουγουάη, έχει βελτιωθεί και είναι δυνατόν νά θεωρηθεί τώρα ως ικανοποιητικό· ότι οι εγκαταστάσεις αυτές μπορούν έπομένως νά προστεθούν στους καταλόγους πού έχουν καταρτισθεί σύμφωνα μέ τό άρθρο 4 παράγραφος 1 της οδηγίας 72/462/ΕΟΚ·

ότι είναι, έπομένως, αναγκαίο νά συμπληρωθούν οι κατάλογοι των εγκαταστάσεων·

ότι τά μέτρα πού προβλέπονται στην παρούσα απόφαση είναι σύμφωνα μέ τή γνώμη της Μόνιμης Κτηνιατρικής Έπιτροπής,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΑΠΟΦΑΣΗ:

Άρθρο 1

Τό παράρτημα της απόφασεως 81/91/ΕΟΚ αντικαθίσταται από τό παράρτημα Α της παρούσας απόφασεως.

Άρθρο 2

Τό παράρτημα της απόφασεως 81/92/ΕΟΚ αντικαθίσταται από τό παράρτημα Β της παρούσας απόφασεως.

Άρθρο 3

Η παρούσα απόφαση άπευθύνεται στά Κράτη μέλη.

Έγινε στις Βρυξέλλες, στις 28 Ιουλίου 1981.

Γιά τήν Έπιτροπή
Ο Πρόεδρος
Gaston THORN

(1) ΕΕ αριθ. L 302 της 31. 12. 1972, σ. 28.

(2) ΕΕ αριθ. L 58 της 5. 3. 1981, σ. 39.

(3) ΕΕ αριθ. L 58 της 5. 3. 1981, σ. 43.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ

I. ΒΟΕΙΟ ΚΡΕΑΣ

Α. Σφαγεία και εργαστήρια κοπής

Άριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
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 dela Plata SA, Rosarie, Santa Fé
15	Frigorífico Colon 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, Bahia Blanca, Buenos Aires
2065	Frigorífico mediterraneos SAICIFA, Pajas Blancas
2067	Cia elaboradora de productos animales SAI CAGT, Pontevedra, Buenos Aires
2072	Frigorífico ganadero SACIA FIGMS, Curuzu Cuatia, Corrientes
2080	Caucan SA, Ezeiza, Buenos Aires

B. Έργαστήρια κοπής

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
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 α.	Frigorífico rioplatense SAICIF, General Pacheco, Buenos Aires

II. ΠΡΟΒΕΙΟ ΚΡΕΑΣ

Σφαγεία και έργαστήρια κοπής

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
8	Corporación argentina de productores de carnes (CAP) cuatrerros, Daniel Cerrí, 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 SACIA FIGMS, Guruzu Cuatia, Corrientes

III. ΚΡΕΑΣ ΙΠΠΩΝ

Σφαγεία και έργαστήρια κοπής

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
351	SA Indio Pampa ICAG, Trenque Lauquen, Buenos Aires
1369	Frigorífico Felmar SA, San Francisco, Buenos Aires
1400	Frigorífico Juchco SCA, Galeguay, Entre Ríos
1451	Lamar SRL, Mercedes, Buenos Aires
2028	Lamar SRL, Resistencia, Chaco

IV. ΨΥΚΤΙΚΟΙ ΧΩΡΟΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΕΩΣ

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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

I. ΒΟΕΙΟ ΚΡΕΑΣ

Σφαγεία και εργαστήρια κοπής

Αριθ. έγκαταστάσεως	Διεύθυνση
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. ΠΡΟΒΕΙΟ ΚΡΕΑΣ

Αριθ. έγκαταστάσεως	Διεύθυνση
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. ΚΡΕΑΣ ΙΠΠΩΝ

Αριθ. έγκαταστάσεως	Διεύθυνση
303	Clay, Ruta 7, km 40, departamento de Canelones

IV. ΨΥΚΤΙΚΟΙ ΧΩΡΟΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΕΩΣ

Αριθ. εγκαταστάσεως	Διεύθυνση
10	Frigorifico 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

ΕΝΑΤΗ ΟΔΗΓΙΑ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 31ης Ιουλίου 1981

περί καθορισμού των μεθόδων κοινοτικής αναλύσεως για τον επίσημο έλεγχο των ζωοτροφών

(81/715/ΕΟΚ)

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΟΔΗΓΙΑ:

Έχοντας υπόψη:

τή συνθήκη περί ιδρύσεως της Ευρωπαϊκής Οικονομικής Κοινότητας,

τήν οδηγία 70/373/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 20ής Ιουλίου 1970 περί εισαγωγής τρόπων λήψεως δειγμάτων και μεθόδων κοινοτικής αναλύσεως για τον επίσημο έλεγχο των ζωοτροφών (1), όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την πράξη προσχωρήσεως της Ελλάδος, και ιδίως τό άρθρο 2,

Έκτιμώντας:

ότι ή οδηγία πού αναφέρεται ανωτέρω προβλέπει ότι οι επίσημοι έλεγχοι των ζωοτροφών πού αποβλέπουν στη διαπίστωση ότι τηρούνται οι όροι πού επιβάλλονται δυνάμει των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων, σχετικά μέ την ποιότητα και τή σύνθεση των ζωοτροφών, πραγματοποιούνται σύμφωνα μέ τούς τρόπους λήψεως δειγμάτων και τίσ μεθόδους κοινοτικής αναλύσεως

ότι οι οι οδηγίες της Έπιτροπής 71/250/ΕΟΚ (2), 71/393/ΕΟΚ (3), 72/199/ΕΟΚ (4), 73/46/ΕΟΚ (5), 74/203/ΕΟΚ (6), 75/84/ΕΟΚ (7), 76/372/ΕΟΚ (8) και 78/633/ΕΟΚ (9), όπως τροποποιήθηκαν τελευταία από τήν οδηγία της 30ής Ιουλίου 1981, έχουν ήδη καθορίσει έναν όρισμένο αριθμό μεθόδων κοινοτικής αναλύσεως' ότι λαμβάνοντας υπόψη τήν κατάσταση προόδου των εργασιών πού πραγματοποιούνται έκτοτε πρέπει νά θεσπιστεί ενάτη σειρά μεθόδων'

ότι τά μέτρα πού προβλέπονται στην παρούσα οδηγία είναι σύμφωνα μέ τή γνώμη της Μόνιμης Έπιτροπής Ζωοτροφών,

Άρθρο 1

Τά Κράτη μέλη επιβάλλουν ώστε οι αναλύσεις για τούς επίσημους έλέγχους των ζωοτροφών, όσον αφορά τήν περιεκτικότητά τους σε anorgane και σε monensin sodium, νά πραγματοποιούνται σύμφωνα μέ τίσ μεθόδους πού περιγράφονται στό παράρτημα.

Άρθρο 2

Τά Κράτη μέλη θέτουν σε ισχύ τίσ νομοθετικές, κανονιστικές και διοικητικές διατάξεις πού είναι αναγκαίες για νά συμμορφωθούν προς τίσ διατάξεις της παρούσας οδηγίας τήν 1η Δεκεμβρίου 1981 και ενημερώνουν περι αυτού τήν Έπιτροπή.

Άρθρο 3

Η παρούσα οδηγία απευθύνεται στα Κράτη μέλη.

Έγινε στις Βρυξέλλες, στις 31 Ιουλίου 1981.

Γιά τήν Έπιτροπή

Ό Πρόεδρος

Gaston THORN

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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΟΡΑΡCΙΝΕ ΔΙΑ ΔΙΑΧΥΣΕΩΣ ΠΑΝΩ ΣΕ ΓΕΛΟΣΕ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό της ανοραρcine στις τροφές και προ-μείγματα. Το κατώτερο όριο του προσδιορισμού είναι 2 mg/kg (2 ppm). Η παρουσία πολυαιθερικών αντιβιοτικών να παρεμβληθεί στον προσδιορισμό.

2. ΑΡΧΗ

Το δείγμα υποβάλλεται σε εκχύλιση διά μείγματος — άκετόνη/νερό/ύδροχλωρικό όξύ. Η αντιβιοτική ενεργότητα του εκχυλίσματος προσδιορίζεται διά μετρήσεως της διαχύσεως της ανοραρcine εντός μέσου με βάση την gélose, στο οποίο έχει προηγηθεί διασπορά του *Bacillus subtilis*. Η διάχυση διαπιστώνται από το σχηματισμό ζωνών ανενεργοποιήσεως του μικροοργανισμού. Η διάμετρος των ζωνών αυτών θεωρείται ότι είναι εὐθέως ανάλογη πρὸς τὸν λογάριθμο τῆς συγκεντρώσεως σὲ αντιβιοτικό γιὰ τὴν περιοχή των συγκεντρώσεων πού χρησιμοποιούνται.

3. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ: *BACILLUS SUBTILIS* ATCC 6633 (NCIB 8054)

3.1. Ἐπεξεργασία τοῦ ὑποστρώματος

Στὸ μέσον καλλιέργειας (4.1), ἐντὸς κεκλιμένων σωλῆνων, διασπείρεται *Bacillus subtilis*. Ἐπὼάζεται ἐπὶ μίᾳ νύχτα στοὺς 30 °C, διατηρεῖται σὲ ψυγεῖο στοὺς 4 °C περίπου καὶ ἀνανεοῦται ἢ διασπορά κάθε μήνα.

3.2. Προετοιμασία τοῦ αιώρηματος σπορίων (1)

Συλλέγονται τὰ σπόρια ἀπὸ ἓνα σωλῆνα μετέγεσε (3.1), πρόσφατης παρασκευῆς, μετὴ βοήθεια 2 ἕως 3 ml ἀποστειρωμένου ὕδατος. Τὸ αἶωρημα αὐτὸ διασπείρεται σὲ 300 ml μέσου καλλιέργειας (4.1) ἐντὸς φιάλης Roux καὶ ἐπὼάζεται ἐπὶ 3 ἕως 5 ἡμέρες στοὺς 30 °C. Ἀφοῦ ἐλεγχθεῖ ἡ ἀνάπτυξη τῶν σπορίων στὸ μικροσκόπιο, συλλέγονται τὰ σπόρια ἐντὸς 15 ml αἰθανόλης (4.2) καὶ ὁμογενοποιοῦνται. Αὐτὸ τὸ αἶωρημα μπορεῖ νὰ διατηρηθεῖ ἐπὶ 5 μῆνες τουλάχιστον στοὺς 4 °C περίπου.

4. ΜΕΣΟΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

4.1. Μέσον ἐπεξεργασίας τοῦ ὑποστρώματος (2)

Πεπτόνη	6,0 g
Τρυπτόνη	4,0 g
Ἐκχύλισμα μαγιάς	3,0 g
Ἐκχύλισμα κρέατος	1,5 g
Γλυκόζη	1,0 g
Γέlose	15,0 g
Νερό	1 000 ml

pH 6,5 (ἔπεται ἀπὸ ἀποστείρωση).

4.2. Αἰθανόλη 20 % (v/v): διαλύονται 200 ml αἰθανόλης μετὴ 800 ml ὕδατος.

4.3. Ὑδροχλωρικό όξύ, d: 1,18 ἕως 1,19.

(1) Ἄλλες μέθοδοι μποροῦν νὰ χρησιμοποιηθοῦν στὸ μέτρο πού ἔχει ἀποδειχθεῖ ὅτι παρέχουν ἀνάλογα αἰωρήματα σπορίων.

(2) Κάθε ἐμπορικό μέσον καλλιέργειας μετὴ ἀνάλογη σύσταση καὶ πού δίδει τὰ ἴδια ἀποτελέσματα μπορεῖ νὰ χρησιμοποιεῖται.

- 4.4. Διάλυμα 2 M υδροξειδίου του νατρίου.
- 4.5. Φωσφορικό ρυθμιστικό 0,1 M:
Δισόξινο φωσφορικό κάλι, KH_2PO_4 : 13,6 g.
Νερό 1 000 ml.
Διορθούται τό pH στό 4,5.
- 4.6. Μείγμα άκετόνης/νερού/ύδροχλωρικού όξέος (4.3): 65/32,5/2,5 (v/v/v).
- 4.7. Πρότυπος ούσία: θειική ανοραρίνη γνωστής ένεργότητας.

5. ΠΡΟΤΥΠΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

Διαλύεται ποσότητα 10 mg περίπου προτύπου ούσίας (4.7), έπακριβώς ζυγισμένη, έντός φωσφορικού ρυθμιστικού (4.5) και άραιούται μέ τό ίδιο ρυθμιστικό για να ληφθεί ένα μητρικό διάλυμα ανοραρίνη τών 100 $\mu\text{g/ml}$. Διατηρούμενο σε κλειόμενες φιάλες στους 4 °C, τό διάλυμα αυτό είναι σταθερό επί 7 ήμέρες.

5.1. Για τά προ μείγματα

Έτοιμάζονται μέ βάση τό παραπάνω διάλυμα και διά διαδοχικών άραιώσεων μέ τή βοήθεια του φωσφορικού ρυθμιστικού (4.5) τά ακόλουθα διαλύματα:

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

5.2. Για τίς τροφές

Έτοιμάζονται μέ βάση τό μητρικό διάλυμα και διά διαδοχικών άραιώσεων μέ τή βοήθεια του φωσφορικού ρυθμιστικού (4.5) τά ακόλουθα διαλύματα:

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

6. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

6.1. Προμείγματα

Ζυγίζεται, μέ ακρίβεια 10 mg, μία ποσότητα δείγματος πού περιέχει 10 έως 100 mg ανοραρίνη, μεταφέρεται σε όγκομετρική φιάλη τών 100 ml, προστίθενται 60 ml του μείγματος (4.6) και άνακινείται επί 15 min επί μηχανικού άναδευτήρα. Έξετάζεται τό pH και διορθούται στό 2, εάν χρειάζεται, μέ υδροχλωρικό όξύ (4.3). Συμπληρούται μέχρι τής χαραγής μέ τό μείγμα (4.6) και όμογενοποιείται. Διηθείται μία ποσότητα από κατάλληλο χάρτινο ήθμό (π.χ. Whatman n° 1) και άπορρίπτονται τά 5 πρώτα ml του διηθήματος. Παραλαμβάνεται ένα μέρος και διορθούται τό pH στό 4,5 μέ τή βοήθεια του διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (4.4). Άραιούται αυτό τό διάλυμα μέ φωσφορικό ρυθμιστικό (4.5) για να ληφθεί μία συγκέντρωση σε ανοραρίνη έκτιμούμενη ως 4 $\mu\text{g/ml}$ (= U_8).

Ξεκινώντας από αυτό τό διάλυμα και διά διαδοχικών άραιώσεων (1 + 1) μέ τή βοήθεια του φωσφορικού ρυθμιστικού (4.5) έτοιμάζονται τά διαλύματα U_4 (έκτιμούμενη συγκέντρωση: 2 $\mu\text{g/ml}$), U_2 (έκτιμούμενη συγκέντρωση: 1 $\mu\text{g/ml}$) και U_1 (έκτιμούμενη συγκέντρωση: 0,5 $\mu\text{g/ml}$).

6.2. Τροφές

Ζυγίζεται ποσότητα δείγματος από 50,0 g, προστίθενται 100 ml μείγματος (4.6) και άνακινείται επί 30 min επί μηχανικού άνακινήτου. Διαηγάζεται τό εκχύλισμα διά φυγοκεντήσεως (έντός κεκλεισμένων σωλήνων), παραλαμβάνεται ένα μέρος του διαηγούς διηθήματος (σύμφωνα μέ τόν παρακάτω πίνακα) και διορθούται τό pH στό 4,5 μέ τή βοήθεια του διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (4.4). Αυτό τό διάλυμα άραιούται μέ τό φωσφορικό ρυθμιστικό (4.5) για να ληφθεί τό διάλυμα U_8 (σύμφωνα μέ τόν παρακάτω πίνακα).

Από αυτό το διάλυμα ετοιμάζονται διά διαδοχικών αραιώσεων (1 + 1) με τη βοήθεια του φωσφορικού ρυθμιστικού (4.5) τὰ διαλύματα U₄ (έκτιμώμενη συγκέντρωση: 1,0 µg/ml), U₂ (έκτιμώμενη συγκέντρωση: 0,5 µg/ml) και U₁ (έκτιμώμενη συγκέντρωση: 0,25 µg/ml).

Έκτιμώμενη συγκέντρωση σε anorgar-cine (mg/kg)	5	7,5	10	15	20	40
Βάρος του δείγματος σε g (± 0,1 g)	50	50	50	50	50	50
Όγκος του μείγματος (4.6) (ml)	100	100	100	100	100	100
Όγκος του διαυγούς έκχυλίσματος (ml)	20	15	20	15	20	10
Τελικός όγκος (ml): U _k	25	25	50	50	100	100
Έκτιμώμενη συγκέντρωση U ₈ σε µg/ml	2	περίπου 2	2	περίπου 2	2	2

7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

7.1. Έμβολιασμός του μέσου καλλιέργειας

Στο μέσον που αποτελεί τη βάση του προσδιορισμού (4.1) διασπείρεται, στους 50 — 60 °C, το αιώρημα των σποριών (3.2). Από προκαταρκτικές δοκιμές με το μέσον (4.1) επί πλακών προσδιορίζεται η ποσότητα έμβολίου που επιτρέπει να ληφθούν για τις διάφορες συγκεντρώσεις σε anorgar-cine ζώνες άνεργοποίησης όσο το δυνατόν έκτεταμένες αλλά πάντοτε σαφείς.

7.2. Προετοιμασία των τριβλίων

Η διάχυση πάνω σε gélose πραγματοποιείται εντός τριβλίων με τις τέσσερις συγκεντρώσεις του προτύπου διαλύματος (S₈, S₄, S₂, S₁) και τις τέσσερις συγκεντρώσεις του έκχυλίσματος (U₈, U₄, U₂, U₁). Κάθε τριβλίο πρέπει απαραίτητα να δεχθεί τις τέσσερις συγκεντρώσεις του προτύπου και του έκχυλίσματος. Για τό σκοπό αυτό τό μέγεθος των τριβλίων εκλέγεται έτσι ώστε να είναι δυνατό να σχηματισθούν στον μέσον με βάση τη gélose όκτώ τουλάχιστον κοιλότητες διαμέτρου 10 έως 13 mm, των οποίων τά κέντρα δέν απέχουν περισσότερο από 30 mm. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν τριβλία επίπεδες ύαλινες πλάκες, στις οποίες θά έχει εφαρμοστεί στεφάνη από αλουμίνιο ή πλαστική ύλη διαμέτρου 200 mm και ύψους 20 mm.

Εισάγεται εντός των τριβλίων μία ποσότητα μέσου (4.1), που έχει ύποστει διασπορά όπως ύποδεικνύεται στό 7.1, τέτοια ώστε να ληφθεί στιβάδα πάχους περίπου 2 mm (60 ml για τριβλίο διαμέτρου 200 mm). Αφήνεται πρós στερεοποίηση, χαράσσονται οι κοιλότητες και αποτίθενται σε αυτές έπακριβώς μετρημένοι όγκοι των διαλυμάτων του προτύπου και του έκχυλίσματος (0,10 έως 0,15 ml ανά κοιλότητα, ανάλογα με τη διάμετρο). Γίνονται τέσσερις τουλάχιστον επαναλήψεις από κάθε συγκέντρωση έτσι ώστε κάθε προσδιορισμός να αποτελεί άντικείμενο εκτιμήσεως 32 ζωνών άνεργοποίησης.

7.3. Έπώαση

Τά τριβλία επώάζονται επί 16 έως 18 ώρες στους 30 °C.

8. ΕΚΤΙΜΗΣΗ

Μετράται η διάμετρος των ζωνών άνεργοποίησης με ακρίβεια 0,1 mm. Για κάθε συγκέντρωση καταγράφονται οι μέσες μετρήσεις επί ήμιλογαριθμικού χάρτου, τοποθετώντας τον λογάριθμο των συγκεντρώσεων έναντι των διαμέτρων των ζωνών άνεργοποίησης. Χαράσσονται οι εύθειες, οι πλέον άντιπροσωπευτικές, για τό πρότυπο διάλυμα και για τό έκχύλισμα, ενεργώντας, επί παραδείγματι, ως κατωτέρω:

Προσδιορίζεται τό πλέον ένδεδειγμένο σημείο του χαμηλότερου επιπέδου του προτύπου διαλύματος (SL) με τη βοήθεια του τύπου:

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

Προσδιορίζεται το πλέον ένδεδειγμένο σημείο του υψηλότερου επιπέδου του προτύπου διαλύματος (SH) με τη βοήθεια του τύπου:

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

Προσδιορίζονται κατά τον ίδιο τρόπο τα πλέον ένδεδειγμένα σημεία του εκχυλίσματος για το χαμηλότερο (UL) και το υψηλότερο επίπεδο (UH), αντικαθιστώντας στους παραπάνω τύπους τα S_1, S_2, S_4 και S_8 με τα U_1, U_2, U_4 και U_8 .

Καταγράφονται οι τιμές SL και SH στο ίδιο διάγραμμα. Διά συνδέσεως των δύο σημείων λαμβάνεται η ευθεία ή πιό αντιπροσωπευτική για το πρότυπο διάλυμα. Ένεργώντας με τον ίδιο τρόπο για τα UL και UH λαμβάνεται η ευθεία ή πιό αντιπροσωπευτική για το εκχύλισμα.

Σε άπουσία κάθε παρεμβαλλόμενης ουσίας, οι ευθείες θα έπρεπε να είναι παράλληλες. Στην πράξη θεωρούνται ως παράλληλες όταν τα (SH-SL) και (UH-UL) δεν διαφέρουν περισσότερο από 10 % του μέσου όρου των.

Αν οι ευθείες δεν είναι παράλληλες μπορεί να παραληφθεί είτε το U_1 και S_1 είτε το U_8 και S_8 . Οι τιμές SL, SH, UL και UH που επιτρέπουν να ληφθούν οι ευθείες οι πλέον αντιπροσωπευτικές υπολογίζονται τότε με τη βοήθεια των κατωτέρω τύπων:

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

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

και αναλόγων τύπων για τα UL και UH. Η χρησιμοποίηση αυτής της εναλλακτικής λύσεως πρέπει επίσης να γίνει αντικείμενο επαληθεύσεως ως προς το παράλληλο των ευθειών, όπως υποδεικνύεται ανωτέρω. Η λήψη αποτελέσματος προερχόμενου από τρία επίπεδα πρέπει να μνημονεύεται στο δελτίο αναλύσεως.

Όταν οι ευθείες θεωρούνται παράλληλες, υπολογίζεται ο λογάριθμος της σχετικής ενεργότητας (log. A) με έναν από τους κατωτέρω τύπους:

Για 4 επίπεδα

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

Για 3 επίπεδα

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

ή

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

Πραγματική ενεργότητα = εκτιμηθείσα ενεργότητα × σχετική ενεργότητα.

Αν η σχετική ενεργότητα εύρεται έξω από τη σειρά των τιμών που περιλαμβάνονται μεταξύ 0,5 και 2,0, επαναλαμβάνεται ο προσδιορισμός με διενέργεια καταλλήλων ρυθμίσεων των συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος ή, ένδεχομένως, των προτύπων διαλυμάτων. Όταν αυτή η ενεργότητα δεν μπορεί να άχθει μέσα στα όρια των απαιτούμενων τιμών, το αποτέλεσμα πρέπει να θεωρείται ως κατά προσέγγιση και η μνεία αυτή πρέπει να σημειούται στο δελτίο αναλύσεως.

Όταν οι ευθείες θεωρούνται μη παράλληλες, επαναλαμβάνεται ο προσδιορισμός. Εάν και πάλι ο παραλληλισμός δεν επιτευχθεί, ο προσδιορισμός πρέπει να θεωρείται ως μη ικανοποιητικός.

9. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν επί του ίδιου δείγματος από τον ίδιο αναλυτή δεν πρέπει να υπερβαίνει:

- 2 mg/kg, σε απόλυτη τιμή, για τις περιεκτικότητες σε anorgane από 2 έως 10 mg/kg
- 20 % του πλέον υψηλού αποτελέσματος για τις περιεκτικότητες από 10 έως 25 mg/kg
- 5 mg/kg, σε απόλυτη τιμή, για τις περιεκτικότητες από 25 έως 50 mg/kg
- 10 % του πλέον υψηλού αποτελέσματος για τις περιεκτικότητες τις ανώτερες από 50 mg/kg.

2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑ ΝΑΤΡΙΟΥ ΜΟΝΕΝΣΙΝ ΔΙΑ ΔΙΑΧΥΣΕΩΣ ΠΑΝΩ ΣΕ ΓΕΛΟΣΕ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό της μετά νατρίου monensin στις τροφές και τά προμείγματα. Το κατώτερο όριο του προσδιορισμού είναι 10 mg/kg (10 ppm) ⁽¹⁾.

2. ΑΡΧΗ

Τό δείγμα υποβάλλεται σε εκχύλιση με μεθανόλη 90 %. Τό εκχύλισμα υποβάλλεται σε κατάλληλες επεξεργασίες ανάλογα με τήν περιεκτικότητα σε μετά νατρίου monensin του δείγματος. Η αντιβιοτική του ενεργότητα προσδιορίζεται διά μετρήσεως της διαχύσεως της μετά νατρίου monensin εντός μέσου με βάση τήν γέλοσε στο όποιο έχει προηγηθεί διασπορά του *Bacillus subtilis*. Η διάχυση διαπιστούται από τό σχηματισμό ζωνών άνενεργοποίησεως του μικροοργανισμού. Η διάμετρος των ζωνών αυτών θεωρείται ότι είναι εϋθέως ανάλογη πρός τον λογάριθμο της συγκεντρώσεως σε αντιβιοτικό γιά τήν περιοχή των συγκεντρώσεων πού χρησιμοποιούνται. Η ευαισθησία της μεθόδου μειούται επί παρουσίας ιόντων νατρίου.

3. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ: BACILLUS SUBTILIS ATCC 6633 (NCIB 8054)

3.1. Έπεξεργασία του ύποστρώματος

Στό μέσον καλλιέργειας (4.1), εντός κεκλιμένων σωλήνων, διασπείρεται *Bacillus subtilis*. Έπωάζεται επί μιά νύκτα στους 30 °C, διατηρείται σε ψυγείο στους 4 °C και ανανεούται ή διασπορά κάθε μήνα.

3.2. Προετοιμασία του αιώρηματος σπορίων ⁽²⁾

Συλλέγονται τά σπόρια από ένα σωλήνα με γέλοσε (3.1), πρόσφατης παρασκευής, με τή βοήθεια 2 έως 3 ml άποστειρωμένου ύδατος. Τό αιώρημα αυτό διασπείρεται σε 300 ml μέσου καλλιέργειας (4.1) εντός φιάλης Roux και έπωάζεται επί 3 έως 5 ήμερες στους 30 °C. Άφου έλεγχθει ή ανάπτυξη των σπορίων στο μικροσκόπιο, συλλέγονται τά σπόρια εντός 15 ml αιθανόλης (4.3) και όμογενοποιούνται. Αυτό τό αιώρημα μπορεί να διατηρείται επί 5 μήνες τουλάχιστον στους 4 °C περίπου.

4. ΜΕΣΟΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

4.1. Μέσον έπεξεργασίας του ύποστρώματος ⁽³⁾

Τρυπτόνη	10,0 g
Έκχύλισμα μαγιάς	3,0 g
Έκχύλισμα κρέατος	1,5 g
Γλυκόζη	1,0 g
Γέλοσε (ανάλογα με τήν ποιότητα)	10,0 έως 20,0 g
Νερό	1 000 ml
pH 6,5 (έπειτα από άποστείρωση).	

4.2. Μέσον ως βάση του προσδιορισμού

Γλυκόζη	10,0 g
Έκχύλισμα μαγιάς	2,5 g
Όξινο φωσφορικό κάλι, K ₂ HPO ₄	0,69 g
Δισόξινο φωσφορικό κάλι, KH ₂ PO ₄	0,45 g
Γέλοσε (ανάλογα με τήν ποιότητα)	10,0 έως 20,0 g
Νερό	1 000 ml
pH 6 (έπειτα από άποστείρωση).	

(1) 1 mg τής μετά νατρίου monensin ίσοδυναμεί με 1 000 μονάδες «UK».

(2) Άλλες μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο μέτρο πού έχει άποδειχθει ότι παρέχουν ανάλογα αιώρηματα σπορίων.

(3) Κάθε έμπορικό μέσον καλλιέργειας με ανάλογη σύσταση και πού δίδει τά ίδια άποτελέσματα μπορεί να χρησιμοποιείται.

- 4.3. Αιθανόλη 20 % (v/v): διαλύονται 200 ml αιθανόλης με 800 ml ύδατος.
- 4.4. Μεθανόλη, άνυδρος.
- 4.5. Μεθανόλη 90 % (v/v): διαλύονται 900 ml μεθανόλης (4.4) με 100 ml ύδατος.
- 4.6. Μεθανόλη 50 % (v/v): διαλύονται 500 ml μεθανόλης (4.4) με 500 ml ύδατος.
- 4.7. Όξείδιο του άργιλίου σε μείγματα (Alcoa F, 20 mesh, ενεργοποιημένη Alumina UGI: F. Lancaster and Co., ή ισοδύναμη).
- 4.8. Πρότυπος ουσία: μετά νατρίου monensin γνωστής ενεργότητας (ειδικά διαθέσιμη στο International Laboratory for Biological Standards, Central Veterinary Laboratory, Weybridge, UK-Surrey KT 15 3NB).

5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 5.1. Περιστροφικός συμπυκνωτής υπό κενό, με φιάλη σφαιρικού πυθμένα των 250 ml.
- 5.2. Υάλινη στήλη χρωματογραφίας, εσωτερικής διαμέτρου 25 mm, μήκους 400 mm, με στενευόν άνοιγμα διαμέτρου 2 mm στο ένα άκρο.
- 5.3. Υάλινη στήλη χρωματογραφίας εσωτερικής διαμέτρου 11 mm, μήκους 300 mm περίπου, με στενευόν άνοιγμα διαμέτρου 2 mm στο ένα άκρο.

6. ΠΡΟΤΥΠΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

Διαλύεται μία ποσότητα επακριβώς εξυγισμένη προτύπου ουσίας (4.8) εντός μεθανόλης (4.4) και αραιούται για να ληφθεί ένα μητρικό διάλυμα μετά νατρίου monensin 800 μg/ml. Διατηρούμενο σε κλειόμενες φιάλες στους 4 °C το διάλυμα αυτό είναι σταθερό επί δύο εβδομάδες.

Ετοιμάζονται με βάση αυτό το διάλυμα και διά διαδοχικών αραιώσεων με τη βοήθεια μεθανόλης 50 % (4.6) τά ακόλουθα διαλύματα:

S ₈	8 μg/ml
S ₄	4 μg/ml
S ₂	2 μg/ml
S ₁	1 μg/ml

7. ΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ

7.1. Έκχύλιση

7.1.1. Προμείγματα

Ζυγίζεται ποσότητα δείγματος από 2,0 g, προστίθενται 100 ml μεθανόλης 90 % (4.5), όμογενοποιείται και έπειτα φυγοκεντρούται επί μερικά λεπτά της ώρας. Αραιούται τό υπερκείμενο διάλυμα με μεθανόλη 50 % (4.6) για να ληφθεί μία συγκέντρωση μετά νατρίου monensin εκτιμώμενη σε 8 μg/ml (= U₈).

7.1.2. Τροφές των οποίων ή περιεκτικότητα σε μετά νατρίου monensin δέν είναι κατώτερη από 50 ppm

Ζυγίζεται μία ποσότητα δείγματος από 10 έως 20 g, προστίθενται 100 ml μεθανόλης 90 % (4.5), όμογενοποιούνται επί 15 min και αφήνονται εν ήρεμία.

Εισάγεται βύσμα βάμβακος στο στενευόν άνοιγμα της υάλινης στήλης (5.2), προστίθεται όξείδιο του άργιλίου (4.7), με ταυτόχρονες ελαφρές κρούσεις της στήλης, μέχρις ότου ή σχηματιζόμενη στήλη φτάσει σε ύψος τά 75 έως 80 mm.

Αποχύνεται τό εκχύλισμα επί της στήλης όξειδίου του άργιλίου και συλλέγεται τό διήθημα. Αραιούνται 30 ml του διηθήματος στά 50 ml με νερό. Αραιούται έπειτα με μεθανόλη 50 % (4.6) για να ληφθεί μία συγκέντρωση σε μετά νατρίου monensin εκτιμώμενη σε 8 μg/ml (= U₈).

7.1.3. *Τροφές των όποιων ή περιεκτικότητα σε μετά νατρίου monensin είναι κατώτερη από 50 ppm (μέχρι του όριου των 10 ppm)*

Ζυγίζεται μία ποσότητα δείγματος από 10 έως 20 g, προστίθενται 100 ml μεθανόλης 90% (4.5), και όμογενοποιούνται επί 15 λεπτά της ώρας. Φυγοκεντρούνται για να ληφθεί διαυγές διήθημα.

Παραλαμβάνονται 40 ml από το υγρό που επιπλέει για δείγμα του όποιου ή περιεκτικότητας σε μετά νατρίου monensin είναι 20 ppm· 80 ml για δείγμα του όποιου ή περιεκτικότητας είναι 10 ppm. Ξεατμίζεται μέχρι ξηρού υπό κενό στην περιστροφική συσκευή (5.1) σε θερμοκρασία μη υπερβαίνουσα τους 40 °C. Διαλύεται το υπόλειμμα σε 10 ml μεθανόλης 90 % (4.5).

Εισάγεται βύσμα βάμβακος στο στενευρό άνοιγμα του υάλινου σωλήνα (5.3), προστίθεται όξειδιο του άργιλιου (4.7), με ταυτόχρονες ελαφρές κρούσεις του σωλήνα, μέχρις ότου ή σχηματιζόμενη στήλη φθάσει τα 75 έως 80 mm ύψος.

Αποχύνεται το μεθανολικό διάλυμα του υπολείματος επί της στήλης του όξειδιου του άργιλιου και συλλέγεται το διήθημα. Πλύνεται ή στήλη με 10 ml μεθανόλης 90 % (4.5) και προστίθενται τα εκπλύματα στο διήθημα.

Ξεατμίζεται το διάλυμα μέχρι ξηρού υπό κενό στην περιστροφική συσκευή (5.1) σε θερμοκρασία κατώτερη από 40 °C. Διαλύεται το ίζημα σε 10 ml μεθανόλης άνωδρης (4.4) και συμπληρωθεί στα 20 ml με υδωρ. Φυγοκεντρούνται στις 4 000 στροφές ανά λεπτό της ώρας τουλάχιστον επί 5 λεπτά. Αραιούται έπειτα με μεθανόλη 50 % (4.6) για να ληφθεί μετά συγκέντρωση σε μετά νατρίου monensin εκτιμώμενη σε 8 µg/ml (= U₈).

7.2. **Διαλύματα του εκχυλίσματος**

Προετοιμάζονται με βάση το διάλυμα U₈ και με διαδοχικές αραιώσεις (1 + 1) με τη βοήθεια μεθανόλης 50 % (4.6) τα διαλύματα U₄ (συγκέντρωση εκτιμώμενη σε: 4 µg/ml), U₂ (συγκέντρωση εκτιμώμενη σε: 2 µg/ml) και U₁ (συγκέντρωση εκτιμώμενη σε: 1 µg/ml).

8. **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ**

8.1. **Έμβολιασμός του μέσου καλλιέργειας**

Στο μέσον, που αποτελεί τη βάση του προσδιορισμού (4.2), διασπείρεται στους 50 — 60 °C το αιώρημα των σπορίων (3.2). Από προκαταρκτικές δοκιμές με το μέσον (4.2) επί πλακών προσδιορίζεται η ποσότητα του έμβολιου που επιτρέπει να ληφθούν, για τις διάφορες συγκεντρώσεις σε μετά νατρίου monensin, ζώνες άνεργοποίησης όσο το δυνατόν έκτεταμένες αλλά πάντοτε σαφείς.

8.2. **Προετοιμασία των τριβλίων**

Η διάχυση πάνω σε gélose πραγματοποιείται εντός τριβλίων με τις τέσσερις συγκεντρώσεις του προτύπου διαλύματος (S₈, S₄, S₂, S₁) και τις τέσσερις συγκεντρώσεις του εκχυλίσματος (U₈, U₄, U₂, U₁). Κάθε τριβλίο πρέπει απαραίτητα να δεχθεί τις τέσσερις συγκεντρώσεις του προτύπου και του εκχυλίσματος. Για το σκοπό αυτό το μέγεθος των τριβλίων εκλέγεται έτσι ώστε να είναι δυνατό να σχηματισθούν στο μέσον με βάση την gélose οκτώ τουλάχιστον κοιλότητες διαμέτρου 10 έως 13 mm, των όποιων τα κέντρα δέν απέχουν περισσότερο από 30 mm. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν τριβλία επίπεδες υάλινες πλάκες, στις όποιες θα έχει εφαρμοστεί στεφάνη από αλουμίνιο ή πλαστική ύλη διαμέτρου 200 mm και ύψους 20 mm.

Εισάγεται εντός των τριβλίων μία ποσότητα μέσου (4.2), που έχει ύποστει διασπορά όπως υποδεικνύεται στο 8.1, τέτοια ώστε να ληφθεί στιβάδα πάχους περίπου 2 mm (60 ml για τριβλίο διαμέτρου 200 mm). Αφήνεται προς στερεοποίηση, χαράσσονται οι κοιλότητες και αποτίθενται σε αυτές έπακριβώς μετρημένοι όγκοι των διαλυμάτων του προτύπου και του εκχυλίσματος (0,10 έως 0,15 ml ανά κοιλότητα, ανάλογα με την διάμετρο). Γίνονται 4 τουλάχιστον επαναλήψεις από κάθε συγκέντρωση, έτσι ώστε κάθε προσδιορισμός να αποτελεί αντικείμενο εκτιμήσεως 32 ζωνών άνεργοποίησης.

8.3. **Έπώαση**

Τα τριβλία επώάζονται επί 18 ώρες στους 35 — 37 °C περίπου.

9. **ΕΚΤΙΜΗΣΗ**

Μετράται ή διάμετρος των ζωνών άνεργοποίησης με ακρίβεια 0,1 mm. Για κάθε συγκέντρωση καταγράφονται οι μέσες μετρήσεις επί ήμιλογαριθμικού χάρτου, τοποθετώντας τον λογάριθμο των συγκεντρώσεων έναντι των διαμέτρων των ζωνών άνεργοποίησης. Χαράσσονται οι εύθειες, οι πλέον αντιπροσωπευτικές, για το πρότυπο διάλυμα και για το εκχύλισμα, ενεργώντας, επί παραδείγματι, ως κατωτέρω:

Προσδιορίζεται τό πλέον ένδεδειγμένο σημείο του χαμηλότερου επίπεδου του προτύπου διαλύματος (SL) μέ τή βοήθεια του τύπου:

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

Προσδιορίζεται τό πλέον ένδεδειγμένο σημείο του ύψηλότερου επίπεδου του προτύπου διαλύματος (SH) μέ τή βοήθεια του τύπου:

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

Προσδιορίζονται κατά τόν ίδιο τρόπο τά πλέον ένδεδειγμένα σημεία του έκχυλίσματος για τό χαμηλότερο (UL) και τό ύψηλότερο επίπεδο (UH) αντικαθιστώντας στους παραπάνω τύπους τά S_1, S_2, S_4 και S_8 μέ τά U_1, U_2, U_4 και U_8 .

Καταγράφονται οι τιμές SL και SH στο ίδιο διάγραμμα. Διά συνδέσεως των δύο σημείων λαμβάνεται ή εϋθεία ή πιό αντιπροσωπευτική για τό πρότυπο διάλυμα. Ένεργώντας μέ τόν ίδιο τρόπο για τά UL και UH λαμβάνεται ή εϋθεία ή πιό αντιπροσωπευτική για τό έκχύλισμα.

Σέ άπουσία κάθε παρεμβαλλόμενης ουσίας, οι εϋθείες θά έπρεπε νά είναι παράλληλες. Στην πράξη θεωρούνται ως παράλληλες όταν τά (SH-SL) και (UH-UL) δέν διαφέρουν περισσότερο από 10 % του μέσου όρου των.

Έν οι εϋθείες δέν είναι παράλληλες μπορεί νά παραληφθει είτε τό U_1 και S_1 είτε τό U_8 και S_8 . Οι τιμές SL, SH, UL και UH πού έπετρέπουν νά ληφθούν οι εϋθείες οι πλέον αντιπροσωπευτικές ύπολογίζονται τότε μέ τή βοήθεια των κατωτέρω τύπων:

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

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

και άναλόγων τύπων για τά UL και UH. Έ χρησιμοποίηση αυτής της έναλλακτικής λύσεως πρέπει επίσης νά γίνει άντικείμενο έπαληθεύσεως ως προς τό παράλληλο των εϋθειων, όπως ύποδεικνύεται άνωτέρω. Έ λήψη άποτελέσματος προερχόμενου από τρία επίπεδα πρέπει νά μνημονεύεται στο δελτίο άναλύσεως.

Όταν οι εϋθείες θεωρούνται παράλληλες, ύπολογίζεται ό λογάριθμος της σχετικής ένεργότητας (log. A) μέ έναν από τούς κατωτέρω τύπους:

Για 4 επίπεδα

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

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

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

Πραγματική ένεργότητα = έκτιμηθείσα ένεργότητα × σχετική ένεργότητα.

Έν ή σχετική ένεργότητα εύρίσκεται έξω από τή σειρά των τιμών πού περιλαμβάνονται μεταξύ 0,5 και 2,0, έπαναλαμβάνεται ό προσδιορισμός μέ διένεργεια καταλλήλων ρυθμίσεων των συγκεντρώσεων του έκχυλίσματος ή, ένδεχομένως, των προτύπων διαλυμάτων. Όταν αυτή ή ένεργότητα δέν μπορεί νά άχθει μέσα στα όρια των άπαιτούμένων τιμών, τό άποτέλεσμα πρέπει νά θεωρείται ως κατά προσέγγιση και ή μνεία αυτή πρέπει νά σημειούται στο δελτίο άναλύσεων.

Όταν οι εϋθείες θεωρούνται μή παράλληλες, έπαναλαμβάνεται ό προσδιορισμός. Έάν και πάλι ό παραλληλισμός δέν έπιτευχθει, ό προσδιορισμός πρέπει νά θεωρείται ως μή ικανοποιητικός.

10. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Έ διαφορά μεταξύ των άποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών πού πραγματοποιήθηκαν επί του ίδιου δείγματος από τόν ίδιο άναλυτή δέν πρέπει νά ύπερβαίνει:

- 20 % του πλέον ύψηλου άποτελέσματος για τίς περιεκτικότητες σε μετά νατρίου monensin από 10 έως 25 mg/kg
- 5mg/kg, σε άπόλυτη τιμή, για τίς περιεκτικότητες από 25 έως 50 mg/kg
- 10 % του πλέον ύψηλου άποτελέσματος για τίς περιεκτικότητες τίς άνώτερες από 50 mg/kg.

