

**RICHTLIJN 93/28/EEG VAN DE COMMISSIE**

van 4 juni 1993

**tot wijziging van bijlage I bij Derde Richtlijn 72/199/EEG betreffende de vaststelling van gemeenschappelijke analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders**DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE  
GEMEENSCHAPPEN,Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese  
Economische Gemeenschap,Gelet op Richtlijn 70/373/EEG van de Raad van 20 juli  
1970 betreffende de invoering van gemeenschappelijke  
bemonsterings- en analysemethoden voor de officiële  
controle van diervoeders<sup>(1)</sup>, laatstelijk gewijzigd bij de  
Akte van Toetreding van Spanje en Portugal<sup>(2)</sup>, en met  
name op artikel 2,Overwegende dat in Derde Richtlijn 72/199/EEG van de  
Commissie van 27 april 1972 betreffende de vaststelling  
van gemeenschappelijke analysemethoden voor de officiële  
controle van diervoeders<sup>(3)</sup>, laatstelijk gewijzigd bij  
Richtlijn 84/4/EEG<sup>(4)</sup>, de methode voor de bepaling van  
het gehalte aan ruw eiwit is vastgesteld;Overwegende dat deze methode moet worden aangepast  
aan de stand van de wetenschappelijke en technische  
voortgang; dat met name rekening moet worden  
gehouden met het bepaalde in Richtlijn 80/1107/EEG  
van de Raad van 27 november 1980 betreffende de  
bescherming van werknemers tegen de risico's van bloot-  
stelling aan chemische, fysische en biologische agentia op  
het werk<sup>(5)</sup>, gewijzigd bij Richtlijn 88/642/EEG<sup>(6)</sup>, en met  
name met de maatregelen ter voorkoming van blootstel-  
ling aan kwik en kwikverbindingen;Overwegende dat kwik en kwik(II)oxide bijgevolg moeten  
worden geschrapt van de lijst van katalysatoren die mogen  
worden gebruikt bij de bepaling van het gehalte aan ruw  
eiwit;Overwegende dat de in deze richtlijn vervatte maatregelen  
in overeenstemming zijn met het advies van het Perma-  
nent Comité voor diervoeders,

HEEFT DE VOLGENDE RICHTLIJN VASTGESTELD:

*Artikel 1*Bijlage I bij Richtlijn 72/199/EEG wordt gewijzigd over-  
eenkomstig de bijlage bij deze richtlijn.*Artikel 2*De Lid-Staten doen de nodige wettelijke en bestuursrech-  
telijke bepalingen in werking treden om uiterlijk op 1 juli  
1994 aan het bepaalde in artikel 1 te voldoen. Zij stellen  
de Commissie daarvan onverwijld in kennis.Wanneer de Lid-Staten deze bepalingen aannemen, wordt  
in de bepalingen naar de onderhavige richtlijn verwezen  
of wordt hiernaar verwezen bij de bekendmaking van die  
bepalingen. De regels voor deze verwijzing worden door  
de Lid-Staten vastgesteld.*Artikel 3*

Deze richtlijn is gericht tot de Lid-Staten.

Gedaan te Brussel, 4 juni 1993.

*Voor de Commissie*

René STEICHEN

*Lid van de Commissie*<sup>(1)</sup> PB nr. L 170 van 3. 8. 1970, blz. 2.<sup>(2)</sup> PB nr. L 302 van 15. 11. 1985, blz. 23.<sup>(3)</sup> PB nr. L 123 van 29. 5. 1972, blz. 6.<sup>(4)</sup> PB nr. L 15 van 18. 1. 1984, blz. 28.<sup>(5)</sup> PB nr. L 327 van 3. 12. 1980, blz. 8.<sup>(6)</sup> PB nr. L 356 van 24. 12. 1988, blz. 74.

**BIJLAGE**

In bijlage I wordt de tekst van punt 2 „Bepaling van ruw eiwit” vervangen door de volgende tekst :

**„2. BEPALING VAN RUW EIWIT****1. Doel en toepassingsgebied**

Met deze methode is het mogelijk het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders te bepalen op basis van het stikstofgehalte, bepaald volgens de Kjeldahlmethode.

**2. Principe**

Het monster wordt ontsloten met zwavelzuur in aanwezigheid van een katalysator. De zure oplossing wordt met een oplossing van natriumhydroxide basisch gemaakt. De ammoniak wordt afgedestilleerd en opgevangen in een bekende hoeveelheid zwavelzuur, waarvan de overmaat met een standaardoplossing natriumhydroxide wordt teruggetitreerd.

**3. Reagentia****3.1. Kaliumsulfaat.****3.2. Katalysator : koper(II)oxide (CuO) of koper(II)sulfaatpentahydraat (CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O).****3.3. Zinkkorrels.****3.4. Zwavelzuur ρ<sub>20</sub> = 1,84 g/ml.****3.5. Zwavelzuur c(½ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 0,5 mol/l.****3.6. Zwavelzuur c(½ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 0,1 mol/l.****3.7. Methylrood-indicator : 300 mg methylrood oplossen in 100 ml ethanol, σ = 95-96 % (v/v).****3.8. Natriumhydroxide-oplossing (technische kwaliteit is voldoende), ϕ = 40 g/100 ml (m/v : 40 %).****3.9. Natriumhydroxide-oplossing, c = 0,25 mol/l.****3.10. Natriumhydroxide-oplossing, c = 0,1 mol/l.****3.11. Puimsteenkorrels, met zoutzuur gewassen en gegloeid.****3.12. Acetanilide (sm.p. = 114 °C ; N = 10,36 %).****3.13. Saccharose (vrij van stikstof).****4. Apparatuur**

Apparatuur, geschikt voor het uitvoeren van ontsluiting, destillatie en titratie volgens Kjeldahl.

**5. Werkwijze****5.1. Ontsluiting**

Weeg af van het monster 1 g op 0,001 g nauwkeurig en breng dit in de recipiënt van de ontsluitings-apparatuur. Voeg hieraan toe 15 g kaliumsulfaat (3.1), een geschikte hoeveelheid katalysator (3.2) (0,3 tot 0,4 g koper(II)oxide of 0,9 tot 1,2 g koper(II)sulfaatpentahydraat), 25 ml zwavelzuur (3.4) en een paar puimsteenkorrels (3.11) ; meng het geheel. Verwarm de recipiënt eerst zacht onder af en toe zwenken, indien nodig, totdat de massa is verkoold en het schuim is verdwenen ; verhit vervolgens krachtiger totdat de vloeistof regelmatig kookt. De verwarming is voldoende wanneer het kokende zuur tegen de wand van de recipiënt condenseert. Zorg ervoor dat de wand niet oververhit raakt en dat er geen organische stof aan gaat vastzitten. Kook nog twee uur nadat de oplossing helder en lichtgroen geworden is ; laat afkoelen.

**5.2. Destillatie**

Voeg genoeg water toe om de sulfaten volledig op te lossen. Laat afkoelen ; voeg enkele zinkkorrels (3.3) toe.

Breng in de opvangkolf van de destillatieapparatuur een nauwkeurig afgemeten hoeveelheid van 25 ml zwavelzuur (3.5 of 3.6), afhankelijk van het verwachte stikstofgehalte. Voeg enkele druppels methylrood (3.7) toe.

Verbind de ontsluitingsrecipiënt met de koeler van het destillatieapparaat en zorg ervoor dat het uiteinde van de koelbuis zich ten minste 1 cm onder het vloeistofoppervlak in de opvangkolf bevindt (zie opmerking 8.3). Giet langzaam 100 ml natriumhydroxideoplossing (3.8) in de ontsluitingsrecipiënt, zonder ammoniakverlies (zie opmerking 8.1).

Vermarm de recipiënt totdat alle ammoniak overgedestilleerd is.

**5.3. Titratie**

Titreer de overmaat zwavelzuur in de opvangkolf terug met natriumhydroxide-oplossing (3.9 of 3.10) afhankelijk van de concentratie van het gebruikte zwavelzuur, totdat het eindpunt is bereikt.

**5.4. Blancoproef**

Voer een blancoproef (ontsluiting, destillatie en titratie) uit met 1 g saccharose (3.13) in plaats van het monster.

**6. Berekening van de resultaten**

Bereken het gehalte aan ruw eiwit met behulp van de volgende formule :

$$\frac{(V_0 - V_1) \times c \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{m}$$

waarin :

$V_0$  = volume (in ml) NaOH (3.9 of 3.10) verbruikt in de blancoproef

$V_1$  = volume (in ml) NaOH (3.9 of 3.10) verbruikt bij de titratie van het monster

$c$  = concentratie (mol/l) natriumhydroxide (3.9 of 3.10)

$m$  = massa (in g) van het monster.

**7. Validatie van de methode****7.1. Herhaalbaarheid**

Het verschil tussen de resultaten van twee parallele, op hetzelfde monster verrichte bepalingen mag niet meer bedragen dan :

- 0,2 % absoluut voor ruw-eiwitgehalten van minder dan 20 % ;
- 1,0 % relatief ten opzichte van de hoogste waarde voor ruweiwitgehalten van 20 % tot 40 % ;
- 0,4 % absoluut voor ruw-eiwitgehalten van meer dan 40 %.

**7.2. Nauwkeurigheid**

Voer de bepaling (ontsluiting, destillatie en titratie) uit op 1,5 tot 2,0 g acetanilide (3.12) in aanwezigheid van 1 g saccharose (3.13); 1 g acetanilide verbruikt 14,80 ml zwavelzuur (3.5).

Er moet ten minste 99 % teruggevonden worden.

**8. Opmerkingen**

- 8.1. De apparatuur kan tot het manuele, halfautomatische of automatische type behoren. Indien de ontsluitingsvloeistof tussen ontsluiting en destillatie overgebracht moet worden, mag er geen verlies optreden. Indien de recipiënt van de destillatieapparatuur niet voorzien is van een druppeltrechter, moet de natriumhydroxide-oplossing langzaam langs de wand toegevoegd worden, onmiddellijk voordat de recipiënt met de koeler wordt verbonden.
- 8.2. Herhaal de bepaling met een grotere hoeveelheid zwavelzuur (3.4) dan hoger vermeld, wanneer het materiaal tijdens het ontsluiten vast wordt.
- 8.3. Bij monsters met een laag stikstofgehalte kan het volume zwavelzuur (3.6) dat in de opvangkolf wordt gebracht zo nodig worden verminderd tot 10 of 15 ml en met water tot 25 ml worden aangevuld.